Aus der Frauenklinik der Universität des Saarlandes
Direktor: Prof. Dr. med. H. Limburg

Tierexperimentelle Untersuchungen an Ratten über eine teratogene Aktivität des Furosemid.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von
HERIBERT ZIEGLER

— 1969 —

Dekan: Prof. Dr. med. H. Witter
Referent: Priv. Doz. Dr. med. M. Krahe

Aus der Frauenklinik der Universität des Saarlandes
Direktor: Prof. Dr. med. H. Limburg

Tierexperimentelle Untersuchungen an Ratten über eine teratogene Aktivität des Furosemid.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von
HERIBERT ZIEGLER

— 1969 —

Dekan: Prof. Dr. med. H. Witter
Referent: Priv. Doz. Dr. med. M. Krahe

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 3. Juli 1969 abgelegt.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Teratogenese	3
1.) Definition	3
2.) Einteilung	3
a) Formale Teratogenese	3
b) Kausale Teratogenese	5
3.) Teratologische Forschung	7
4.) Das teratologische Tierexperiment	9
III. Das Salureticum Furosemid	15
1.) Definition und Wirkung der Saluretica	15
2.) Einteilung der Saluretica	15
3.) Lasix	16
a) Pharmakologie	16
b) Klinik	19
IV. Embryologie und Teratologie des Versuchstieres	22
1.) Wahl des Versuchstieres	22
2.) Definition des Rattenstammes BD II	23
3.) Ernährung der Versuchstiere	23
4.) Physiologie der Rattenfortpflanzung	24
5.) Normale Embryonalentwicklung der Ratten	24
6.) Teratogene Empfindlichkeit der Rattengravidität	26

Seite

V. Toxizitätstest 28

1.) Versuch 1 28

2.) Versuch 2 29

3.) Diskussion 3o

VI. Teratogeneseversuche 32

1.) Vorbemerkung: Die therapieadäquate Dosierung 32

2.) Anordnung der Versuche 33

3.) Beobachtungen und Ergebnisse der Versuche 1-8 34

a) Gewichtsentwicklung

b) Fertilität

c) Teratogene Schäden

d) Postnatale Entwicklung

e) Geschwisterpaarung

f) Diskussion

4.) Gesamtergebnis 49

VII. Zusammenfassung 51

VIII. Verzeichnis des Schrifttums 53

I. Einleitung

In der praenatalen Periode ist die menschliche Frucht durch nicht geringere und kaum weniger zahlreiche Noxen gefährdet, als nach der Geburt; jedoch werden die Schäden, falls früher Fruchttod nicht erfolgt, mit erheblicher Verzögerung, anderenfalls meist überhaupt nicht bemerkt, sodass die Deutung solcher post partum beobachteter Varianten sehr erschwert wird.

Die Eigenart der intrauterinen Entwicklung sowie die sehr verschiedene Sensibilität einzelner Frucht - teile während der Embryo- und Organogenese bringen es mit sich, dass es der Forschung bis heute nicht völlig gelungen ist, determinierte schädigende Einwirkungen für bestimmte teratogene Veränderungen zu finden; vielmehr scheint der sich entwickelnde Organismus auf unterschiedlichste, ihn während der gleichen Embryonal- oder Fetalphase treffende Noxen mit ähnlichen-, auf gleichartige Einwirkungen zu verschiedenen Zeitpunkten mit differenten Reaktionen zu antworten.

Erst die Thalidomidkatastrophe hat durch die Häufung einheitlicher Schäden unter einheitlichen Be - dingungen die medizinische wie die allgemeine Aufmerksamkeit auf das bisher wenig erforschte Gebiet teratogenen Geschehens gelenkt und bewiesen, dass es für pharmazeutische Industrie und ärztliches Handeln nicht genügt, den therapeutischen Index Th.I. = Letaldosis : Einzeldosis möglichst gross zu halten. Nach all den

leidvollen Erfahrungen ist es heute unbedingt erforderlich, jedes einzelne in der Schwangerschaft anwendbare neue Heilmittel, vor seiner Einführung in die Klinik, umfassenden und zum Teil noch neu zu erarbeitenden Versuchen über unbekannte teratogene Aktivität der betreffenden Substanz zu unterziehen.

Diese Forderung musste auch für Furosemid, ein in Deutschland unter dem Namen Lasix vertriebenes und während der Gravidität vielfach verwandtes Saluretícum erhoben werden.

Durch Tierexperimente mit Ratten latente teratogene Potenzen des Furosemid wahrscheinlicher oder unwahrscheinlicher zu machen, ist das Ziel der vorliegenden Arbeit.

II. Teratogenese

1.) Definition

Teratogenese nennen wir den praenatalen krankhaften Vorgang, der sich an den Organisatoren, den Wachstum und Formbildung des Keims induzierenden Aktionszentren, vollzieht und zu intrauterinen Fehlentwicklungen, somit zu bleibenden morphologischen Abweichungen des Gesamtorganismus oder seiner Teile von der Norm, sogenannten teratogenen Schädigungen oder Missbildungen führt. Dabei verstehen wir unter Missbildungen (=Monstra= Terata) nicht Mangel an zureichender körperlicher Ausgestaltung schlechthin, sondern dysgenetische Formstörungen (L e t t e r e r), welche in einer fehlerhaften Wachstums-und Differenzierungsentwicklung von Keimteilen, also letztlich in gestörten zellulären Stoffwechselvorgängen, ihre Entstehungsursachen haben, die also in der praenatalen Wachstumsphase entstanden oder zum mindesten angelegt sind (H a m p e r l, L e t t e r e r).

2.) Einteilung

Wir unterscheiden eine formale und eine kausale Teratogenese.

a) Die ältere formale Teratogeneseeinteilung beinhaltet folgende Typen (L e t t e r e r, H a m p e r l):

- Hemmung der Entwicklungsvorgänge (Monstra per defectum). Dazu gehören die Agenesien, Hypoplasien, Organrudimente und - persistenzen, wie Atresien, Obliterationen und Stenosen.

z.B. Dysmelie-Syndrom.

- Steigerung der Entwicklungsvorgänge (Monstra per excessum) z.B. Überschussbildungen, Hyperplasien, Riesenwuchs.
- Entwicklungsvorgänge an falscher Stelle (Monstra per fabricam alienam) d.h.Verlagerung richtig ausgebildeter Organe oder Organ- und Gewebsbezirke (" versprengte Keime ").

Diese rein deskriptive Einteilung erlaubt uns, pathologische Teratogenese und normale Embryogenese in Verbindung zu bringen, um daraus auf die Zeitspanne zu schliessen, während der eine Missbildung angelegt sein muss. Es ergibt sich ganz allgemein der Grundsatz: Je schwerer eine teratogene Fehlgestaltung ist, desto früher muss die ursächliche Noxe wirksam gewesen sein. Da nun der Zeitpunkt der Formbildung des Körpers und seiner Organe bekannt ist, wird es möglich, für viele Missbildungen die Entwicklungsperiode festzulegen, vor deren Beginn die Abweichung noch nicht, nach deren Ende sie nicht mehr aufgetreten sein kann. Wir nennen diesen Zeitraum die teratogene Determinationsperiode, den spätesten Zeitpunkt für die Anlage der Missbildung den Determinationspunkt.

Keine Aussage jedoch ermöglicht die Formanalyse über die Ursachen der teratogenen Schädigung, da formal gesehen die gleiche Missbildung durch Einflüsse aus der näheren oder weiteren Keimumwelt, wie auch durch gengebundene Bedingungen hervorgebracht werden kann,

denn die wachstumshemmende und formbestimmende Stoffwechselstörung kann sowohl in einer Fehlstruktur der Zellen und ihrer Genbestände begründet sein, als auch durch von aussen an den Keim herangebrachte Ursachen hervorgerufen werden.

b) Die kausale Teratogenese

Folgenreicher für die moderne medizinische Prophylaxe und Therapie ist die Einteilung nach kausalgenetischen Faktoren, die zu teratogenen Veränderungen führen können.

Wir unterscheiden:

b_1) Endogene, genotypisch begründete und damit hereditäre Ursachen,

b_2) exogene, phänokopierende, peristatische Ursachen, die über den Placentarweg auf die sich entwickelnde Frucht einwirken.

In diesem Zusammenhang sind zu nennen:

- Infektionskrankheiten des Feten, bes.Lues,
- Erkrankungen der Mutter, die nicht unmittelbar auf die Frucht übertragen werden, jedoch durch krankhafte Stoffwechselprodukte Missbildungen hervorrufen können, insbesondere Viruskrankheiten, (Röteln, Masern, Mumps, Hepatitis, Vaccine) längere Hungerperioden, in einem kleinen Prozentsatz (W e r t h e m a n n)

auch Diabetes. Die Embryopathia diabetica kann ausser für das Entstehen von "Riesenkindern" und Kindern mit ungeklärter Lebensinsuffizienz auch für Schädeldecken- und Cerebraldefekte bis zur Anencephalie, für Skelett-, Herz- und andere Schäden, die bei entsprechender Schwere zum Absterben der Frucht führen, verantwortlich sein. (J.B. M a y e r).

- Mechanische Einflüsse: selten und lange Zeit überschätzt (L e t t e r e r), vor allem zu enges Amnion und Körperoberflächenverwachsungen mit dem Amnion.
- Roentgen- und Gammastrahlen; von letzteren haben nach L e f e b v r e Dosen über 2oo r die Resorption des Feten zur Folge, Dosen von 25-2oo r bedeuten ein erhebliches Missbildungsrisiko.
- Sauerstoffmangel,
- Chemische Stoffe und Pharmaka (pharmakogene Teratogenese). Die häufigsten und zur Zeit aktuellsten potentiell-teratogenen Faktoren sind Chemikalien, insbesondere Medikamente. Einige davon, z.B. Vitamin A in Uber- und Unterdosierung, hat man zur experimentellen Erzeugung von Missbildungen verwendet. (A. G i r o u d). Vom Lithium ist der terato-

gene Effekt lange bekannt. Weiter sind Steroide, speziell Hormone mütterlichen, fetalen, evtl. auch placentaren Ursprungs, (C o u r r i e r, J o s t) Calmantien, z.B. Neuroleptica (Doriden, Aturban), Phenothiazine, Imipramin, Barbiturate und Zytostatika (Aminopterin, Chlorambucil, Myleran) zu nennen (T u c h m a n n - D u p l e s s i s und M e r c i e r - P a r o t, beide Paris).

Ein besonders tragisches Beispiel für medikamentöse Teratogenese lieferte in den letzten Jahren das in 5-Stellung mit dem Phthalsäureimidrest substituierte 2,6 Dioxipiperidin (Thalidomid, Contergan).

3. Teratologische Forschung

Aufgabe der tierexperimentellen Teratologie ist es, Pharmaka, die beim Menschen Missbildungen provozieren können, noch vor der klinischen Anwendung zu erkennen. Die schädliche Wirkung verschiedener Agentien, wie Zellgifte und bestimmte Arzneimittel, auf die vorgeburtliche Entwicklung, ist seit Jahrzehnten bekannt (D r u c k r e y, H a s k i n, W a r k a n y). Da aber klinisch zwischen Medikation während der Gravidität und Entstehung von Missbildungen, bezw. Aborten und Resorptionen keine unmittelbaren Beziehungen beobachtet wurden, gewannen tierexperimentelle

Befunde über die teratogene Wirkung von Pharmaka vorerst kaum Bedeutung (R a y n a u d, R o u x). Erst als die mögliche Beziehung zwischen der erhöhten Missbildungsrate und der Thalidomideinnahme in den Herbstmonaten des Jahres 1961 erkannt wurde (W i e d e m a n n, L e n z, W e i c k e r), ist die Untersuchung teratogener Aktivitäten ein Bestandteil der Arzneimittelprüfung geworden. In der Folge wurde bei verschiedenen Tierarten mit einer Vielzahl von anderen Medikamenten (z.B.Sulfonamide, Antibiotica, Antihistaminica, Narcotica, Zytostatica, Hormone u.a.) eine bestimmte teratogene oder resorptive Wirkung nachgewiesen (E r h a r d, B r o c k und K r e y b i g, G i r o u d, T u c h m a n n-D u p l e s s i s und M e r c i e r - P a r o t, J u r a n d, K i n g, W a r k a n y). Allerdings sind die Bewertung und der Vergleich der Befunde noch nicht in jedem Fall zur Beurteilung eines Arzneimittels genügend. So konnte z.B. die teratogene Wirkung von Thalidomid im Tierversuch nur mühsam eindeutig nachgewiesen werden (Versuche mit Mäusen und Kaninchen von G i r o u d, M e r c i e r-P a r o t und T u c h m a n n-D u p l e s s i s). Es zeigt sich, dass die Teratogenese auch im Tierversuch ein vielschichtiges Problem ist. Die Entstehung des Effekts hängt von einer Vielzahl entwicklungsphysiologischer, pharmakologischer und genetischer Faktoren ab, die bisher nur teilweise untersucht sind. Dazu gehören

u.a. die sich im Zuge der Entwicklung stetig verändernde phasenspezifische Sensibilität der Frucht, die bestimmten Affinitäten vieler Agentien zu determinierten Blastemen und Primitivorganen (Organotropie), die artspezifisch verschiedene relative Empfindlichkeit für ganz bestimmte teratogene Noxen, d.h. das höchst unterschiedliche Verhalten verschiedener Versuchsspezies (S t e n g e r u.a., H a c k e n b e r g e r und v. K r e y b i g), aber auch verschiedener Genotypen der gleichen Tierart gegenüber ein und demselben Agens. Dazu gehören auch die metabolische Beziehung zwischen Keim und Mutter vor und nach der Nidation sowie die Probleme der Plazentarschranke.

4. Das teratologische Tierexperiment

Die medikamentöse Missbildung ist als Reaktion auf eine chemische Noxe eindeutig ein toxikologisches Phänomen, dessen Sonderstellung gegenüber toxischen Reaktionen im engeren Sinne primär durch den entwicklungsphysiologischen Zeitpunkt der Schädigung und die lange Spanne zwischen Noxe und Sichtbarwerden des Schadens, sekundär durch dessen Irreversibilität bedingt ist. Wir können deshalb im teratologischen Tierversuch einen Spezialfall der Toxizitätsprüfung sehen und bei seiner Interpretation von den Voraussetzungen ausgehen, die sich in der pharmakologischen und toxikologischen Untersuchung von Wirkstoffen bewährt haben. Medikamentöse Teratogenese können wir demnach mit L o o s l i

und T h e i s s als "fetale Toxikologie " definieren.

Folgende beide Voraussetzungen sind für die Beurteilung toxikologischer und damit auch teratologischer Wirkstoffprüfungen von Bedeutung:

a) Bei Toxizitätsprüfungen am Tier muss die Toleranzgrenze überschritten, d.h. ein toxischer Effekt erzeugt und nachgewiesen werden, denn das Urteil über ein Präparat stützt sich nicht so sehr auf die Häufigkeit und Art der beobachteten Schädigungen, als vielmehr auf das Verhältnis der toxischen zur therapeu - tischen Dosis. Je grösser die Differenz zwischen diesen beiden Dosiswerten, desto geringer wird die Gefahr einer Anwendung des Präparates beim Menschen sein (L o o s l i und T h e i s s, P a g e t und S p i n k s).

b) Schon in der konventionellen Toxikologie sind, da manche bei den Labortieren bekannte oder kontrollierbare Faktoren sich beim Menschen sehr unterschiedlich verhalten, experimentell erarbeitete Daten lediglich als Hinweise zu betrachten, die eine zu erwartende menschliche Reaktion zwar ungefähr abstecken lassen, aber keine unfehlbare Voraussage erlauben. Umso weniger dürfen wir auf dem relativ schlecht bekannten Gebiet der " fetalen Toxikologie " kritiklos Analogieschlüsse ziehen und unbesehen auf den Menschen übertragbare Resultate erhoffen. Die Wirkungen eines als teratogen verdächtigen Mittels müssen vielmehr in Berücksichtigung eines wechselnden Hintergrundes von Rasse, Umwelt,

sozialer Stellung, Ernährungsgewohnheit, Infektionen, hormonalem Zustand, multiplen Schwangerschaften und psychischen Störungen (J.W. M i l l e n) gewertet werden; dann erst erscheint eine vorsichtig abwägende Prognose berechtigt (L o o s l i und T h e i s s). Die Gefahr eines neuen Pharmakons für die menschliche Frucht kann wegen der artbedingt-unterschiedlichen Sensibilität anhand der Labortierprüfung über- aber auch unterschätzt werden:

Die Möglichkeit der Überschätzung wird durch die aus Sicherheitsgründen praktizierte hohe Überdosierung im Tierversuch gefördert. Andererseits darf, wie uns die Thalidomidkatastrophe gelehrt hat, bei Fehlen von Missbildungen und scheinbar hoher Versuchsdosierung nicht unbedingt auf gefahrlose therapeutische Anwendung beim Menschen geschlossen werden. Da aber wahrscheinlich mit allen pharmakodynamischen Substanzen Missbildungen ebensogut wie postnatal toxische Reaktionen erzwungen werden können, sollte das Auftreten von tierexperimentellen Abnormitäten mit hohen Dosen auf keinen Fall dazu führen, ein Präparat ohne weitere Kritik von der Klinik fernzuhalten.

Ein weiteres toxikologisches Postulat, das vorsichtige klinische Abtasten der menschlichen Reaktionen als letzte Stufe vor der Freigabe eines neuen Medikamentes, ist bei Verdacht auf teratogene Aktivität wegen der Irreversibilität der Embryopathien nicht durchführbar.

Daher soll bei experimentell begründetem Verdacht auf teratogene Wirkung ein Präparat zunächst nicht an gravide Frauen verabreicht werden.

c) Es wurde erwähnt, dass humanteratogene Aktivität nicht aus experimentell mit einem Pharmakon erzeugten Missbildungen impliziert werden darf. Für eine klinisch bedeutsame Teratogenität lassen sich nach L o o s l i und T h e i s s folgende vier Regeln aufstellen:

1.) Ein klinisch relevantes teratogenes Vermögen muss aus der Relation der Dosiswerte von mütterlicher LD 5o, fetaler LD 5o bezw. Dosis fetaler Missbildungen 5o und ED 5o ermittelt werden. Je weiter die Embryotoxizität von der therapeutischen Dosis beim betreffenden Versuchstier entfernt liegt und je mehr sie sich der allgemeinen Toxizität, der mütterlichen LD 5o nähert, desto geringer ist die klinische Erheblichkeit des Befundes. Voraussetzung für einen sinnvollen Vergleich ist, dass eine experimentelle teratogene Dosis in Beziehung zur ED 5o des Labortieres und nicht zu der des Menschen gesetzt wird. Der Vergleich von Tierversuchen mit klinischen Versuchen soll somit nicht auf Gewichtsdosen pro kg Körpergewicht, sondern auf pharmakodynamischen Einheiten beruhen (L o o s l i

und T h e i s s).

2.) Als weitere Verfeinerung des Teratogenese-Screenings ist noch die mögliche Bedeutung der Phasenspezifität zu erwähnen. Wir kennen eine Anzahl unspezifischer teratogener Aktivitäten, die während der gesamten Organogenese wirksam sind und je nach dem Zeitpunkt der Noxe ganz verschiedene Defekte setzen; so entstehen z.B. unter Hypovitaminose A bei der Maus zunächst Anencephalie, später Spina bifida, Nierenläsionen, Augen- und Ohrendefekte, Gliedmassenanomalien und schliesslich Gaumensegelspalten (G i r o u d und M a r t i n e t). Ähnliche Spektren sind für Folsäuremangel (N e l s o n), Sauerstoffmangel (D e g e n h a r d t u.a.) und andere Noxen ermittelt worden. Demgegenüber ist die"kritische Phase" der Thalidomidembryopathie bei Mensch und Maus relativ schmal und somit auch das Spektrum der Thalidomidschäden. Diese Beobachtungen konnten dahin interpretiert werden, dass eine kurze kritische Phase Ausdruck einer sehr spezifischen teratogenen Aktivität ist und damit ein Argument für die ungünstige Beurteilung eines Präparates bietet.

3.) Eine zusätzliche Sicherung gegen Fehlurteile bietet die Verwendung verschiedener Tierarten, die sowohl eine stammesunterschiedliche oder nahrungs-, placenta-, und wurfmengenabhängige besondere Sensibilität, als auch eine aberrante Resistenz einer einzelnen Art erkennen lässt (M i l l e r), aber eine evtl. aberrante Sensibilität des Menschen bei absoluter Resistenz aller Versuchstiere nicht berücksichtigt. Die Wahrscheinlichkeit fötotoxischer Wirkungen auf die menschliche Frucht wird mit der Zahl der reagierenden Testarten zunehmen.

4.) Der morphologische Habitus einer Missbildung ist irrelevant. Reduzierte Trächtigkeitsrate oder vermehrte Resorptionen sind wie Missbildungen zu bewerten.

III. Das Saluretícum Furosemid

1.) Definition und Wirkung der Saluretica

Saluretica, auch Natriuretica oder zum Teil noch Diuretica nennt man Stoffe, die durch direkte Einwirkung auf die Niere die Ausscheidung von Natrium erhöhen. Infolge der Eliminierung von Natrium und entsprechenden Anionen kommt es zum Verschwinden vorhandener Ödeme und zur Beeinflussung des Na/K-Quotienten (K u s c h i n s k y).

2.) Einteilung der Saluretica

a) Osmotische Diuretica, z.B. Harnstoff und Purinderivate, sind wegen ihrer zu schwachen und inkonstanten Wirkung heute obsolet.

b) Quecksilberverbindungen, trotz der sehr guten diuretischen Wirkung wegen der Gefahr von Hg-Schäden fast verlassen.

c) Carboanhydrasehemmer vom Typ des Acetazolamid, ebenfalls weitgehend ungebräuchlich geworden.

d) Benzothiadiazinstoffe, heute die überlegenen Konkurrenten der Hg-Verbindungen, eine Fortentwicklung der Carboanhydrasehemmer, deren Wirkung mit der SO_2NH_2-Gruppe erhalten, aber durch den zusätzlichen Effekt eines Cl-Atoms in unmittelbarer Nachbarschaft am Ring verstärkt ist.

e) Spirolacton

f) Furosemid, eine den Benzothiadiazinen verwandte Substanz.

3.)Lasix

Im Verlauf mehrjähriger Forschungsarbeiten gelang es den Farbwerken Hoechst AG, ausgehend von den Benzolsulfonamidpraeparaten , das in seiner chemischen Struktur von den bisher gebräuchlichen Hg-Verbindungen, Thiaziden und anderen heterozyklischen Substanzen sich unterscheidende Salureticum Lasix (chem. Kurzbezeichnung Furosemid, früher Fursemid) zu synthetisieren.

a) Pharmakologie

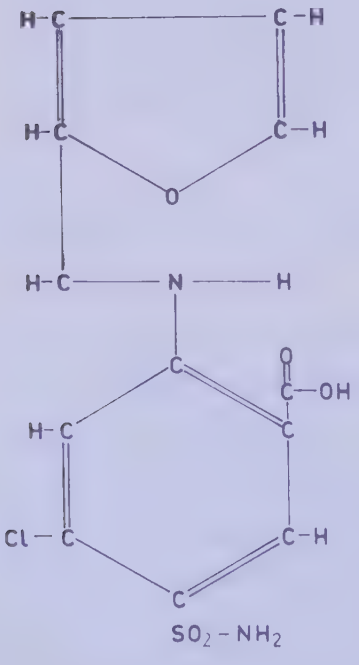


Abb.1:
Bei Lasix handelt es sich um 4-Chlor-N-(2-furylmethyl)-5-sulfamoyl-anthranilsäure.
Molekulargewicht: 330,8
Schmelzpunkt: 203°C

Im pharmakologischen Tierversuch mit Ratten und Hunden (T i m m e r m a n, H a d j u und M u s c h a w e c k sowie viele andere) erwies sich Lasix als sehr wirksam. Klinische Untersuchungen wurden später auch an Menschen angestellt. Die wichtigsten Ergebnisse seien im folgenden zusammengefasst:

Lasix ist ein starkes, prompt und relativ kurz wirkendes (B e r g s t r ö m, P u p i t a et al., H a m m a r s t r ö m) oder gar das stärkste und am raschesten einsetzende Salureticum (A m b r o s o l i), dessen Dosiswirkungskurve einen wesentlich steileren Verlauf und eine dreifach höhere Aktivitätsspitze aufweist (T i m m e r m a n u.a.) als die Thiazide, denen es wie allen anderen Präparaten, bes. bei Ödempatienten überlegen ist (S c h n a c k, B e r g s t r ö m, R o b s o n u.a., K ö n i g s t e i n, A m b r o s o l i u.a., M o l l, K l ü t s c h und L a r i z z a, K l e i n f e l d e r und viele andere).

Fursemid ist auch bei stark eingeschränkter Glomerulumfiltration wirksam (V o r b u r g e r, H e i d l a n d, K l ü t s c h und S u z u k i, K r a m e r, M u t h, E b r a h i m u.a.); es bewährt sich dort, wo andere Mittel versagten (M c. I l w a i n e, S c h n a c k, A m b r o s o l i).

Während der Behandlung blieb nach A m b r o s o l i die Wirkung konstant, wogegen B e r g s t r ö m und P e l t o l a einen leichten Wirkungsabfall bemerkten. Senkungen des

erhöhten Blutdrucks wurden ähnlich wie bei den Chlorothiaziden, jedoch häufiger beobachtet (L e d e r b o g e n, H a m m a r s t r ö m), der normale Blutdruck blieb unbeeinflusst (E b r a h i m u.a.).

Trotz massiver Diurese kam es nicht zur Hypokaliämie (M c. I l w a i n e, K ö n i g s t e i n). Veränderungen des Elektrolythaushaltes wurden im Dosenbereich nicht gesehen.(H a d j u,H a m m a r s t r ö m, A m b r o s o l i et al.).
Nach K l e i n f e l d e r (V o r b u r g e r, M o l l u.a.), E b r a h i m, R e i m o l d und anderen ergab sich ein günstigerer Na/K-Quotient als beim Hydrochlorothiazid. B e r g s t r ö m und P e l t o l a registrieren zwar gelegentlich bei höherer Dosierung einen geringen Abfall des Plasma-Kaliumspiegels, der aber, was auch L a r i z z a, M o l l, R e i m o l d, L e d e r b o g e n, S c h n a c k, P u l p i t a und andere bestätigen, durchaus innerhalb der Normgrenzen verblieb und sich ohne Kaliumgaben zu normalisieren pflegte.

Alle Autoren heben die gute Verträglichkeit von Lasix hervor (V o r b u r g e r, E b r a h i m u.a., P e l t o l a, R e i m o l d u.a.). Nennenswerte Nebenwirkungen, insbesondere die bei den Benzothiadiazinen so häufigen Gastrointestinalstörungen, wurden nicht beschrieben (K l e i n f e l d e r, A m b r o s o l i, S c h n a c k). H a d j u konnte auch keine patholo-

gisch- anatomisch- toxischen Veränderungen finden. Diabetogene Effekte, wie sie bei den Thiaziden gelegentlich imponierten, wurden nicht bemerkt (J e n n e r, P e l t o l a, L e d e r b o g e n, N e u m a n n, K ö n i g s t e i n, S c h ä f e r u.a.).

b) Klinik

Furosemid ist oral, intravenös und intramuskulär anwendbar. Durch Variation der Applikationsform, der Dosis und des Dosierungsintervalls kann jeder erforderliche Diuresetyp erreicht werden. Wegen seines raschen Wirkungseintritts ist es bei i.v.Injektionen das Mittel der Wahl für therapeutische Notfallsituationen. (A m b r o s o l i).

Lasix ist demnach indiziert:

- bei allen Formen kardial bedingter Ödeme, die trotz ausreichender Glykosidbehandlung nicht zu beseitigen sind (V o r b u r g e r, P e l t o l a, R e i m o l d, L e d e r b o g e n, K l e i n f e l d e r).
- bei Ödemen renaler Genese, besonders bei Nephrotischem Syndrom, auch in steroidrefraktären oder - kontraindizierten Fällen.
- bei hepatischen Ödemen, speziell bei fortgeschrittenen und weitgehend therapieresistenten Zirrhoseformen mit Aszites, sekundärem Hyperaldosteronismus, Hypoproteinämie und Störungen des Elektrolythaushaltes, evtl. in Kombination mit Aldosteron -

antagonisten (Spironolacton).

- bei Hirnödemen statt der bisher üblichen Behandlung mit Infusion von Harnstoff und anderen osmotisch wirksamen Substanzen (Mannit, Sorbit), denn diese Therapie ist zwar wirksam, aber mit erheblichen Risiken, z.B. Rest-N-Anstieg,Krämpfen, Gewebsnekrosen, belastet und zudem nur mit grossem Aufwand durchführbar. Lasix ist in seinem Effekt dem Harnstoff vergleichbar, aber einfacher anzuwenden und ungleich besser verträglich.
- beim Lungenödem und Asthma cardiale. Durch die bei intravenöser Injektion innerhalb weniger Minuten einsetzende Diurese kommt es zu einer schnellen und eindrucksvollen Rückbildung des bedroh - lichen Zustandes (A m b r o s o l i, P e l t o l a, R e i m o l d , B e r g s t r ö m, H i r s c h, K r a m e r, G e r s t e n b r a n d und S t o c k e s).
- bei Schwangerschaftsödemen (L o c h). In schweren Fällen von Gestose mit Blutdrucksteigerung sollte Lasix zur Erreichung eines grösseren hypotensiven Effektes mit anderen blutdrucksenkenden Mitteln kombiniert werden (L i m b u r g , B u c h h e i t und N i c o l a i).
- bei Hypertonie leichteren und mittleren Grades. Andernfalls ist Kombination mit Antihypertensiva, z.B. vom Wirkungstyp des Reserpin, angebracht.

Weiterhin ist Lasix indiziert bei variköse m Symptomenkomplex, lokalen thrombotischen und sonstigen mechanischen Ödemen (J ä n n e r), bei Barbituratvergiftungen (sog. skandinavische Methode, F r i t z) und zur " Blasenwäsche " nach Prostatektomien (M i h a i l i d i s und A m s l e r).

IV. Embryologie und Teratologie des Versuchstieres.

1.) Wahl des Versuchstieres

Wie in der allgemein-toxikologischen, so ist auch in der teratologischen Praxis das Arbeiten mit den üblichen Laboratoriumssäugetierarten am zweckmässigsten. Wenn auch Untersuchungen mit Amphibienlarven, Reptilien- und Vogeleiern, Gewebs- oder Protozoenkulturen praktische Vorteile zu bieten scheinen, so sind ihre grosse phylogenetische Entfernung von den Primaten, die bezuglose Dosierung sowie die Ermangelung einer Placenta, die zwischen den beiden möglichen Störungsstellen Mutter und Embryo eine Schlüsselstellung einnimmt, Schwierigkeiten, die gegen ihre Verwendung sprechen. Ein Test - system ohne Mutter und Placenta, welche letztere, falls abnorm, nach K r o n e anscheinend allein häufig teratogen wirkt, kann beim heutigen Stand der Kenntnisse keine verlässlichen Angaben über potentielle klinische Teratogeneseaktivität einer Substanz liefern.
Für die Durchführung teratologischer Tierexperimente und deren Reproduzierbarkeit ist die Auswahl genetisch bekannten, homologen Versuchstiermaterials von entscheidender Bedeutung, da sich verschiedene Genotypien gegenüber der Applikation von Teratogenen zum Teil unter - schiedlich verhalten. Für die Untersuchungen an Ratten stehen die lo genau definierten BD-Stämme, die 1951 D r u c k r e y bei strenger Geschwisterpaarung

von Albinoratten des Wistarstammes erhalten hatte, zur Verfügung, deren " spontane ", d.h. normalerweise durch genetische, physiologische und Umweltfaktoren auftretende Missbildungs- und Fruchttodrate bekannt ist. Diese liegt bei den Ratten der BD-Stämme zwischen 2 und 10%.

2.) Definition des Rattenstammes BD II

Verwendung fand der durch die Formel:

cc PP aa hh

definierte Rattenstamm BD II.

C = Chromogenfaktor, sein Fehlen ist Voraussetzung für die Albinofärbung des Felles.

A = Wildfarbenfaktor, notwendig für gelbes und schwarzes Pigment in den Haaren.

H = Haubenscheckungsfaktor, Bedingung für die Fellausfärbung.

P = Unterdrückungsfaktor für dunkles, nicht aber für gelbes Pigment.

3.) Ernährung der Versuchstiere

Ratten benötigen für ihre Ernährung sehr abwechselungsreiche Kost mit hohem Angebot an tierischem Eiweiss und vitaminhaltigen Substanzen. Verwendet wurde die von B r o c k und Mitarbeitern vorgeschlagene Ernährung von Laboratoriumstieren mit Altromin-Diäten (Firma Altrogge Futtermittel, Lage/Lippe). Der Flüssigkeitsbedarf wurde durch Leitungswasser aus automa-

tischen Trinkflaschen gedeckt.

4.) Physiologie der Rattenfortpflanzung

Ratten werden mit reichlich 3 Monaten geschlechtsreif und werfen nach einer Tragzeit von 3 Wochen etwa 5-lo Junge. Diese werden 3-4 Wochen gesäugt.

5.) Normale Embryonalentwicklung der Ratten

Die vorgeburtliche Entwicklung verläuft bei allen Säugetierarten nach dem gleichen Prinzip, wenn auch bereits gegen Ende der Primitivorganausbildung die spezifischen Besonderheiten mit zunehmender Deutlichkeit geprägt werden. Damit treten im zeitlichen Verlauf der darauf folgenden Entwicklungsetappen erhebliche Unterschiede bei den verschiedenen Spezies auf. Für das teratologische Experiment erscheint es daher zweckmässig, die praenatale Entwicklung in vier, bei sämtlichen Säugetierarten voneinander eindeutig getrennte, jedoch miteinander vergleichbare Stadien einzuteilen.

a) Frühentwicklung:

Sie erstreckt sich von der Befruchtung bis zum Nabelanschluss und dauert bei der Ratte 11 Tage. Durch die Furchungsmitosen entsteht aus der Zygote die Morula, deren Zellen sich zunehmend funktionell spezialisieren. Der erste Differenzierungsvorgang ist die Blastogenese: Embryoblast sondert sich von Trophoblast. Es entsteht das Mesoderm und mit der Ausbildung der Primitivrinne setzt die morphologische Determination der Primitivorgane,

die Embryogenese ein, eine Phase intensiven Wachstums, die bald nach der Nidation beginnt; Chorda, Stammplatte und Somiten bilden sich. Beim Verschluss des Neuroporus superior krümmt sich der Keim dorsoventral und die Nabelschnur wird angelegt, bei der Ratte am 11. bis 12.Tag der Gestation.

b) Embryonale Entwicklungsphase

(12.bis 15. Tag der Rattengravidität).

Die Primitivorgane erreichen in dieser Etappe den Höhepunkt ihrer Entwicklung und bereiten sich zur Ausdifferenzierung vor. Charakteristisch für dieses Stadium ist die Entstehung der Extremitätenknospen, die Ausbildung der Karpalia und die Sonderung in proximale und distale Extremitätenregion.

c) Frühe fetale Entwicklung.

Sie setzt mit dem Beginn der Organdifferenzierung ein und führt zur Ausbildung der vorgeburtlichen Form. Der Rumpf des gekrümmten Rattenkeimlings streckt sich, Gesichtsregion, Stamm und Gliedmassen erhalten ihr Aussehen, das Knorpelmodell des Skelettes wird angelegt.

d) Späte fetale Entwicklungsphase.

Dieses Stadium gliedert sich in Skelettreifung (Ossifikation) und Organreifung; es beginnt bei der Ratte am 15. und 16. Gestationstag mit einsetzender Kalkablagerung im Knorpel und dauert bis zur Geburt, die die 22,5 tägige praenatale Entwicklung abschliesst.

Bei den Nestflüchtern (z.B. Meerschweinchen) folgt auf die spätfetale Entwicklung noch eine weitere intrauterine Reifungsperiode, die bei den Nesthockern (z.B. Ratte) nach der Geburt während der ersten Hälfte der Laktation verläuft.

6) Teratogene Empfindlichkeit der Rattengravidität

Die Annahme, dass das erste Drittel der Schwangerschaft gegenüber teratogenen Reizen unempfindlich sei (G i r o u d, T u c h m a n n-D u p l e s s i s und M e r c i e r- P a r o t), hat in der früheren unvollkommenen Methodik ihre Begründung. Heute wissen wir, dass alle Stadien der Gravidität in unterschiedlichem Masse teratogene Empfindlichkeit zeigen:

a) Blastozystenstadium:

G o t t s c h e w s k i erzeugte durch einmalige Behandlung mit Cyclophosphamid und auch mit Thalidomid Missbildungen an einem Kaninchenembryo, d.h. Blastopathien. Um missgebildete Embryonen lebend zu erfassen, müssen sie während der embryonalen Entwicklungsphase herauspräpariert werden, da sie zu deren Ende absterben und resorbiert werden.

b) Nidation:

In dieser Periode ist der Embryo hochempfindlich. Nach Gabe niedriger Teratogendosen entstehen in geringem Prozentsatz Missbildungen, normale oder verzögerte Weiterentwicklungen, während der Hauptteil der Keime noch vor Nabelanschluss abstirbt.

c) Phase der Primitivorganbildung:

Es entstehen zusammen mit einer Mehrzahl abgestorbener Früchte Missbildungen der Körpergrundgestalt oder lebenswichtiger Organe. So konnten bei Ratten Spina bifida, Zyklopie, Fehlformungen der Gesichtsregion und die verschiedensten Hirn-,Augen-,Herz- und Gefässmissbildungen, wie auch Defekte der Leber-und Nierenentwicklung erzeugt werden, während Extremitätenmissbildungen in den früheren Stadien selten auftreten. Der Keim ist in dieser Phase höchst empfindlich: niedrige Dosen z.B. von Cyclophosphamid (ca. 4-5% der LD 50) bewirken das Absterben von mehr als der Hälfte der Embryonen.

d) Zeitpunkt der dorsoventralen Krümmung und des Nabelanschlusses:

Die Behandlung mit Teratogenen in dieser sehr gefährdeten Periode führt im Tierversuch zu irreversiblem Entwicklungsrückstand bezw. zur Fruchtresorption. In dieser Phase sterben die meisten der in früheren Stadien geschädigten Keime; diese Etappe ist auch in der gynäkologischen Praxis (Mitte bis Ende der 4.Woche) durch eine erhöhte Abortquote bekannt.

e) Embryonale Entwicklungsphase:

Diese Zeitspanne,in der die Prädetermination und Determination der Organdifferenzierung erfolgt, besitzt eine sich ständig verändernde Empfindlichkeit gegenüber teratogenen Reizen. Wir beobachten besonders Defekte in der Ausbildung des Gehirns und des desmalen Schädelskelettes, der Gesichtsregion und bei den Kleinnagern auch der Mandibular- und Nasenbögen.

V. Toxizitätstest

Bei den Voraussetzungen für die Beurteilung teratologischer Wirkstoffprüfungen (4a) wurde von der Notwendigkeit gesprochen, einen toxischen Effekt beim Versuchstier zur Bestimmung der mittleren letalen Stoffmenge zu erzeugen.

Beginnend bei einer Anfangsdosis von 2oo mg/kg Körpergewicht, der dem höchsten Punkt der von T i m m e r m a n, S p r i n g m a n und T h o m s gezeichneten Dosiswirkungskurve entsprechenden therapeutischen Maximaldosierung bei Ratten, wurde Lasix zur Ermittlung der akuten Toxizität anhand zweier Versuchsreihen ausgetestet.

Versuch 1

Anordnung: Zur groben Orientierung wurden 5 Ratten des Stammes BD II im Gewicht um 2oo g gleichzeitig folgende Mengen von Furosemid intraperitoneal injiziert:

Ratte 1: 2oo mg/kg Körpergewicht
Ratte 2: 4oo mg/kg Körpergewicht
Ratte 3: 8oo mg/kg Körpergewicht
Ratte 4: 16oo mg/kg Körpergewicht
Ratte 5: 32oo mg/kg Körpergewicht

Ergebnis: Bei der Kontrolle 3 Stunden post injectionem lebten noch: Ratten 1 und 2. Sie verhielten sich auch weiterhin unauffällig und hatten in einem späteren Versuch normale Junge.
Tot waren: Ratten 3, 4 und 5.

Aus dieser Beobachtung wurde geschlossen, dass die akute Toxizität von Furosemid bei intraperitonealer Injektion an Ratten zwischen 4oo mg/kg und 8oo mg/kg Körpergewicht liegen müsse.

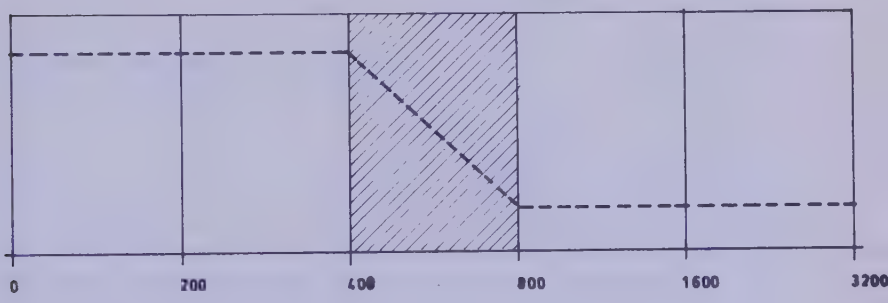


Abb.2: Toxizitätstest 1

Versuch 2

Anordnung: Zur weiteren Abgrenzung des toxischen Bereiches wurden 3o Ratten im Gewicht um 2oo g in 5 Sechsergruppen geteilt. Folgende Dosen von Furosemid wurden den Tieren der einzelnen Gruppen intraperitoneal injiziert:

Gruppe 1: 4oo mg/kg Körpergewicht

Gruppe 2: 5oo mg/kg Körpergewicht

Gruppe 3: 6oo mg/kg Körpergewicht

Gruppe 4: 7oo mg/kg Körpergewicht

Gruppe 5: 8oo mg/kg Körpergewicht

Ergebnis: 3 Stunden nach der Lasix-Applikation waren noch am Leben:

6 Tiere der Gruppe 1

6 Tiere der Gruppe 2

5 Tiere der Gruppe 3

2 Tiere der Gruppe 4

1 Tier der Gruppe 5

tot waren:

0 Tiere der Gruppen 1 und 2

1 Tier der Gruppe 3

4 Tiere der Gruppe 4

5 Tiere der Gruppe 5

Die beiden die 3-Stunden-Grenze überlebenden Versuchsratten der Gruppe 4 gingen bis zum Abend des Untersuchungstages (Kontrolle 1o Stunden post applicationem) ebenfalls ein; die übrigen Tiere überstanden das Trauma, zeigten während einer 4-wöchigen Beobachtungszeit keine Besonderheiten und warfen in späteren Teratogenese-Versuchen unauffällige Junge.

Diskussion: Die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen liessen den Schluss zu, dass die akute Toxizität von intraperitoneal appliziertem Furosemid für Ratten des BD II-Stammes zwischen 6oo und 7oo mg/kg Körpergewicht liegt. Eine genauere Bestimmung erlaubte die geringe Menge von Versuchsmaterial nicht. Wir können demnach die LD 5o für intraperitoneal mit Lasix behandelte BD II-Ratten bei 65o $\pm$ 5o mg/kg Körpergewicht festsetzen. Diese Zahl stimmt in der Grössenordnung überein mit der vom Herstellerwerk ermittelten intravenösen

LD 5o bei Ratten von 68o mg/kg und der von C h a r t erarbeiteten ebenfalls intravenösen LD 5o von ca. 8oo mg/kg Körpergewicht.

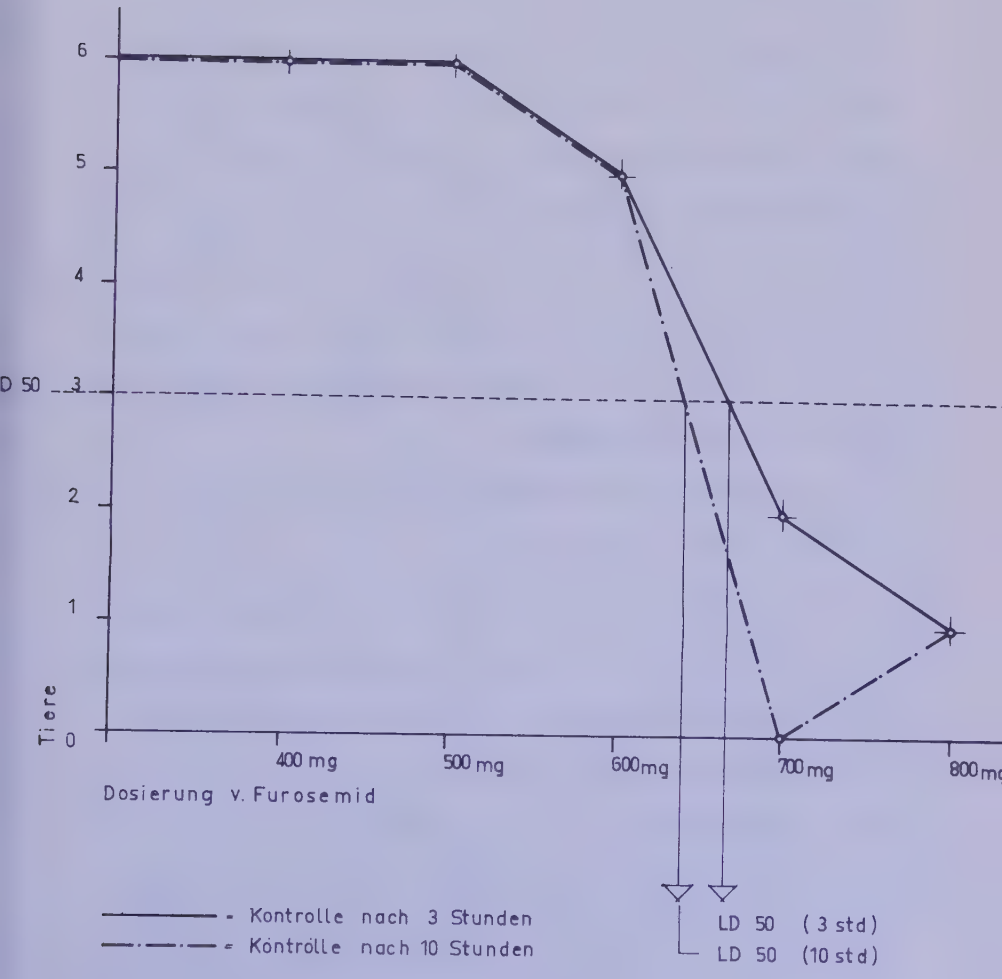


Abb. 3: Toxizitätstest 2

VI. Teratogeneseversuche

1.) Vorbemerkung: Die therapieadäquate Dosierung

Letztlich dient jeder Tierversuch dem Ziel, mögliche menschliche Reaktionen auf ein zu untersuchendes Medikament abzustecken. Voraussetzung für ein nicht bezugloses Arbeiten ist die Ermittlung sog. isodynamer oder therapieadäquater Dosierungen. Dazu genügt es jedoch nicht, ein menschliches Therapieschema, auf Kilogramm Körpergewicht umgerechnet, auf das Versuchstier zu übertragen. Unter therapieadäquater Dosen eines Pharmakons versteht man vielmehr diejenigen Stoffmengen, die in der Lage sind, bei artverschiedenen Probanten einen gleichen therapeutischen Effekt, im Falle eines Saluretics also eine pro Kilogramm Körpergewicht gleich starke Natriurese zu bewirken.

Zur Ermittlung isodynamer Dosen von Furosemid wurden die von M u s c h a w e c k und H a d j u für den Menschen und von T i m m e r m a n, S p r i n g m a n und T h o m s für die Ratte entworfenen Dosiswirkungskurven in einem gemeinsamen Diagramm dargestellt, (Abb.4) dem geeignete Werte entnommen werden können. Danach beträgt z.B. die Lasixmenge, die bei Mensch und Ratte eine Natriurese von 3,5 mval/kg Körpergewicht hervorruft, bei der Ratte 13 mg/kg, dagegen beim Menschen nur 2 mg/kg Körpergewicht. Eine Dosierung von 2 mg/kg Körpergewicht ist aber in der Humantherapie meist die obere Grenze einer täglichen Furosemidmedikation (intravenös) für schwere Fälle (z.B.Hirnödem); die isodyname

THERAPIEADÄQUATE (ISODYNAME) DOSIERUNG

VON FUROSOMID BEI PERORALER VERABREICHUNG AN MENSCHEN BZW. RATTEN

Punkte	X	Y
A	0.207	0.45
B	0.420	0.90
C	0.830	1.45
D	1.250	1.95
E	1.660	2.50
F	2.600	5.31
G	10	3.0
H	1/4 v. 100	3.8
J	100	10.1
K	1/2 b. 1000	10.7

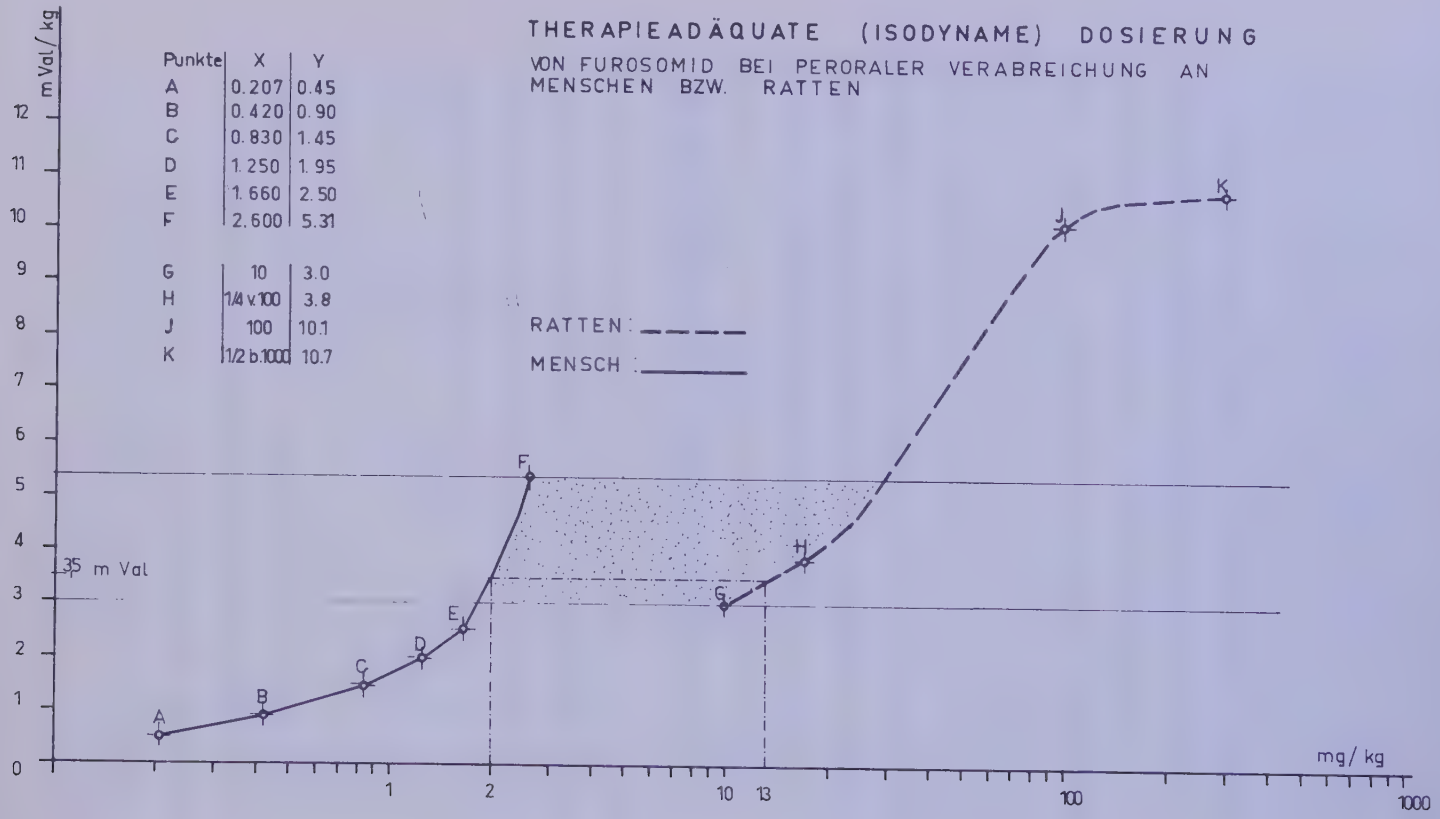


Abb. 4

Stoffmenge bei der Ratte ist daher geeignet, den Ausgangspunkt für vorliegende Versuche zu bilden. s.Abb.4

2.) Anordnung der Versuche

17o weibliche Ratten des BD II-Stammes und ebenso viele Kontrolltiere wurden in 8 Versuchsreihen zunächst im Verhältnis 3:1 (Experiment 1-3), später 2:1 (Experiment 4-8) mit den Männchen kopuliert. Die Unterteilung in Versuchs- und Kontrolltiere war dabei völlig willkürlich. Jeweils am 6.Tag nach dem Zusammensetzen wurde bei den Versuchstieren mit den täglichen intraperitonealen Lasixinjektionen, bei den Kontrolltieren mit der Einspritzung gleicher Volumina physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal begonnen. Die Injektionen wurden bis zum Wurftag oder längstens bis zum 3o.Tag nach Versuchsbeginn fortgeführt. Vom Tag des Zusammensetzens bis zur Beendigung der Furosemidapplikation fand in 2-3 tägigen Abständen (montags, mittwochs und freitags) eine Überprüfung der Gewichtsentwicklung der Tiere statt. Nach jeder Kontrolle wurden die individuellen Lasixdosierungen dem neuen Gewichtsstand angepasst. An die Injektionszeit schloss sich eine 4-monatige Beobachtung der Würfe sowohl der Versuchs-, als auch der Kontrolltiere an. Während des ersten Monats verblieben die Jungen bei der Mutter. Wöchentlich zweimal, bis zum Ablauf des 4.Monats, erfolgte eine Überprüfung des Entwicklungsstandes sowie die Registrierung eventueller Normabweichungen. Zur weiteren Sicherung gegen latente teratogene Schadigungen wurde anschliessend die Geschwisterpaarung zweier beliebiger Jungtiere aus jeder

Versuchsreihe und die Kontrolle der Würfe auf Missbildungen vorgenommen.

Folgende Lasixdosierungen kamen zur Anwendung:

1.) Therapieadäquate Dosis: 13 mg/kg bei 2o Ratten
2.) 5 x " : 65 mg/kg bei 3o Ratten
3.) 1o x " : 13o mg/kg bei 2o Ratten
4.) 2o x " : 26o mg/kg bei 1o Ratten
5.) 4o x " : 52o mg/kg bei 3o Ratten
6.) 45 x " : 585 mg/kg bei 2o Ratten
7.) 5o x " : 65o mg/kg bei 2o Ratten
8.) 55 x " : 715 mg/kg bei 2o Ratten

3.) Beobachtungen und Ergebnisse der Versuche
s.Abb.5-1o (S.48a-48 f)

Versuch 1

a) Gewichtsverlauf: Das Gewicht stieg, sowohl bei den Versuchs-, als auch bei den Kontrolltieren, von mässigen Schwankungen der individuellen Zuwachsrate abgesehen, stetig an. Gewichtsstürze waren nicht zu verzeichnen. Erst post partum fielen die Gewichte auf Werte ab, die die der Erstwägungen im Mittel um 2o bis 25 g übertrafen.

b) Fertilität:

aa)Versuchstiere: Von den 2o Versuchsratten warfen 13 entsprechend einem Fertilitätsquotienten von 65%. Die Gesamtsumme der Jungen belief sich auf 11o, davon 16 Totgeburten (14,5%), während die Pro-Kopf-Zahl zwischen 3 und 12 schwankte. Im Schnitt

trafen auf jedes Muttertier 8,4 Junge, deren mittleres Geburtsgewicht 6,4 g betrug.

bb) Kontrolltiere: Hier trugen und warfen nur 8 von 2o Ratten, entsprechend einer Fertilität von 4o%. Die Summe sämtlicher Würfe betrug 57 Jungtiere, davon 48 = 84,2% lebend, und 9 = 15,8% totgeboren. Hieraus ergibt sich eine mittlere Wurfzahl von 7,1 pro Ratte. Das durchschnittliche Geburtsgewicht der Kontrolltierjungen lag bei 7,3 g.

c) Apparente Missbildungen waren weder bei den lebend- noch bei den totgeborenen Jungtieren nachzu - weisen.

d) Während der Beobachtungszeit zeigte sich ein gleichmässiger Gewichtszuwachs bei allen Jungtieren. Auffällige Form- und Verhaltensvarianten, sowie Ent - wicklungsunterschiede bei Versuchs-und Kontrolltieren wurden nicht beobachtet. Innerhalb der Kontrollzeit gingen ein: 5 Versuchstierjunge (davon 3 gefressen) und ein Kontrolltierjunges.

e) Geschwisterpaarung: Das Weibchen warf am 28. Tag nach dem Zusammensetzen 7 unauffällige Junge von durchschnittlich 7 g Gewicht. Sie entwickelten sich während einer dreiwöchigen Kontrollzeit normal.

f) Diskussion: Fertilität und Wurfzahlmittel lagen bei den Versuchstieren über den Vergleichswerten. Die bei den Kontrolltieren günstigeren Geburtsgewichts- durchschnitte dürften auf die geringeren Einzelwurfmengen zurückzuführen sein. Bei den Kontrolltieren konnte rech-

nerisch ausserdem eine etwas bessere Überlebensrate der Jungen festgestellt werden (97,9 und 95,9%). Da jedoch die während der Beobachtungszeit aufgetretenen Ausfälle in beiden Tierreihen sehr gering sind und zudem, besonders bei den Kontrolltieren, die Zufälligkeit der zu kleinen Zahl eine grosse Rolle spielen kann (hier ist nur ein einziges Jungtier = 2,1% eingegangen), darf dieses Ergebnis nicht überbewertet werden.

Ähnliches gilt für den überraschend hohen Prozentsatz an Totgeburten in beiden Tierreihen, der ausschliesslich auf den Gesamtausfall der Jungen zweier Einzeltiere zurückzuführen ist und daher mehr rechnerische als praktische Bedeutung besitzt.

Von einer einzigen Ausnahme abgesehen (Nr. 917 hatte 12 tote Junge geworfen, davon 11 reif und normal, 1 unreif und zu klein), waren alle Jungen sämtlicher Würfe zum Zeitpunkt der Geburt voll ausgereift und normal gebildet. 136 der 142 Lebendgeborenen (siehe d) entwickelten sich völlig unauffällig. Missbildungen traten nicht auf.

Versuch 2

a) Gewichtsverlauf: Die Kontrolltiere zeigten bis auf leichte Differenzen in der Zuwachsrate kontinuierliche Gewichtszunahme. Gewichtsverminderungen waren zu keinem Zeitpunkt zu beobachten. Bei den Versuchstieren verlief die Entwicklung durchweg parallel, lediglich bei der 3. Wägung am Ende der 1. Injektionswoche waren bei sämtlichen 12 Tieren von 4 der 10 Käfige

schwache bis mässige Gewichtsverluste zu verzeichnen, während bei den 18 Ratten der übrigen 6 Kästen die Gewichtskurve, wie zu erwarten, anstieg.
Dieser Abfall mag von kurzfristiger unzureichender Fütterung herrühren; er war schon bei der folgenden Wägung in keinem der Fälle mehr zu bemerken. Post partum fielen die Gewichte der betroffenen Ratten auf Werte ab, die im Durchschnitt etwa 45 g über denen der Erstwägung lagen.

b) Fertilität:

aa) Versuchstiere: Bei ihnen warfen 13 von 3o, einer Fertilitätsquote von 43,3% entsprechend. Die Gesamtzahl der Jungen belief sich auf 116 (4 Totgeburten), dabei schwankte die Pro-Kopf-Zahl der Jungtiere zwischen 4 und 13; durchschnittlich trafen auf jedes Muttertier 8,9 Junge mit einem postnatalen Mittelgewicht von 6,1 g.

bb) Kontrolltiere: Nur 2 von 15 Tieren trugen, was einer Fertilität von 13,3% entspricht. In toto ergab sich eine Gesamtzahl von 13 Jungratten, die alle lebten. Die Einzelwurfmengen lagen dabei zwischen 4 und 9, (im Mittel 6,5) das mittlere Geburtsgewicht der Kontrolltierjungen zwischen 5,5 und 6,5 g.

c) Makroskopische Missbildungen wurden nicht gesehen.

d) Die Entwicklung der Jungen wurde bis zur Sexualreife beobachtet: Es imponierte gleichmässige Gewichts- und Grössenzunahme. Entwicklungsdifferenzen

bei Versuchs-und Kontrolltieren waren nicht erkennbar. Ausfälle während der Kontrollzeit:Versuchstierjunge 13 = 11,6%, Kontrolltierjunge 0 = 0%

e) Geschwisterpaarung: Die am 25.Tag nach dem Zusammensetzen geborenen 9 lebenskräftigen und makroskopisch unauffälligen Jungtiere von durchschnittlich 5,5 g Gewicht entwickelten sich innerhalb der nächsten 3 Wochen physiologisch.

f) Diskussion: Das Verhältnis der Fertilitäts - quoten war auch hier, wie in Versuch 1, für die Test - tiere günstig, rechnerisch sogar noch etwas besser als in V.1 (dort 65% : 4o%; hier 43,3% : 13,3%). Nicht zu verkennen ist, dass die absoluten Fertilitäten unter denen von V. 1 lagen. Gegen einen fertilitätsdepressiven Einfluss von Furosemid spricht jedoch die Tatsache einer weit stärkeren Fruchtbarkeitsminderung in der Kontrolltierreihe, sowie die Registrierung eines geringen Anstiegs der mittleren Einzelwurfzahlen gegenüber Versuch 1 (o,5). Etwas besser als die Jungen der Versuchstiere schnitten die der Kontrollen bei den Geburtsgewichten ab, was wiederum durch die jeweils kleinere Wurfgrösse erklärt werden kann. Der Prozentsatz der Totgeburten fällt in dieser Versuchsreihe im Gegensatz zu Versuch 1 nicht ins Gewicht, dagegen liegen die Ausfälle während der Beobachtungszeit hier prozentual etwas höher. Bemerkenswert erscheint hierbei, dass eines der Versuchstiere offensichtlich bereits vor Beginn des Experiments trächtig war, da es 9 Tage vor dem

frühstmöglich errechneten Termin 4 lebensfähige, wenn auch nicht ganz reife Junge warf, die nach einigen Tagen gefressen wurden. Ausser der eben erwähnten, traten keine Geburtsanomalien auf; sämtliche Jungen zeigten sich voll ausgereift und gesund, teratogene Schäden wurden nicht beobachtet.

Versuch 3

a) Gewichtsverlauf: Bei Versuchs- und Kontrolltieren registrierten wir während der Gravidität stetige Gewichtszunahme. Stationärbleiben oder Abfälle nach anfänglichem Zuwachs, die Resorptionen nahegelegt hätten, traten nicht auf. Ein Versuchstier, das von Anfang an durch struppiges, glanzloses Fell aufgefallen war, verendete 3 Tage nach Testbeginn in kachektischem Zustand. Die Sektion ergab ein hochrotes, maximal gefässinjiziertes Peritoneum. Im übrigen fielen die Gewichte erst nach der Geburt auf durchschnittlich 15 g über dem Ausgangsniveau liegende Werte ab.

b) Fertilität:

aa)Versuchstiere: Bis auf das oben erwähnte kranke und bald eingegangene Tier, das sicher nicht konzipiert hatte, warfen alle Testratten (19). Die Gesamtjungtierzahl betrug 154, davon 17 Totgeburten. Folglich ergab sich ein Fertilitätsquotient von 95%, eine durchschnittliche Jungenzahl pro Muttertier von 7,05 (mittleres Geburtsgewicht 6,0 g) und ein Prozentsatz an Totgeburten von 9,05%.

bb) Kontrolltiere: Auch hier warfen 19 von 2o Ratten (Fertilität folglich ebenfalls 95%). Die Gesamtsumme sämtlicher Jungen belief sich auf 118, 23 davon wurden tot geboren (19,5%). Pro Ratte ergab sich eine mittlere Wurfzahl von 6,2 Jungtieren, deren durchschnittliches Geburtsgewicht 4,9 g betrug.

c) Missbildungen waren weder in der Versuchs- noch in der Kontrolltierreihe zu beobachten.

d) In der 4-monatigen postnatalen Kontrollzeit zeigte sich bei allen Jungtieren unauffällige Entwicklung bei stetiger Gewichtszunahme. Form- oder Verhaltensvarianten traten nicht auf. Sämtliche Versuchstierjungen erreichten das fortpflanzungsfähige Alter.

e) Am 21.Tag post copulationem warf das Weibchen 5 nicht missgebildete, lebensfähige Junge mit einem Durchschnittsgewicht von 8,9 g, die sich innerhalb der folgenden 3 Wochen unauffällig entwickelten.

f) Diskussion: Da die Fertilitätsquotienten von Versuchs- und Kontrollserie gleich sind und die durchschnittliche Wurfzahl der Versuchstiere die der Kontrollen sogar noch um ein geringes übertrifft (7,o5 gegenüber 6,21), da zudem makroskopische Missbildungen nicht auftraten, die Entwicklung der Jungen der mit Lasix vorbehandelten Ratten physiologisch verlief und sich von der der Kontrolltierjungen in nichts unterschied, da weiterhin auch in der 2. Filialgeneration keine apparenten teratogenen Veränderungen erfassbar wurden, ist eine keimschädigende Wirksamkeit von Furosemid in lo-

fach therapieadäquater Dosierung bei Ratten nicht zu vermuten.

Versuch 4

a) Gewichtsentwicklung: Bei 3 Ratten (2 Versuchstiere, 1 Kontrolltier), die später nicht warfen, stagnierte das Gewicht. Alle übrigen Tiere imponierten durch raschen und beträchtlichen Gewichtszuwachs, der erst durch die Geburt auf ein die Erstwerte um durchschnittlich 5 g übertreffendes Endniveau gesenkt wurde.

b) Fertilität:

aa)Versuchstiere: Entsprechend einer Fertilitätsrate von 8o% warfen 8 von 1o Versuchsratten. Es ergab sich eine Gesamtjungenzahl von 65, davon 3 Totgeburten. Auf jedes Muttertier trafen im Schnitt 8,1 Junge (Schwankungsbreite 5 bis 11) mit einem mittleren Nativgewicht von 5,4 g.

bb) Kontrolltiere: Die Fertilität betrug 9o%. Von 1o Ratten trugen und warfen 9. Bei einem mittleren Geburtsgewicht von 5,6 g belief sich die durchschnittliche Wurfzahl pro Muttertier auf 7,6, die Gesamtjungtierzahl auf 67.

c) Makroskopische Missbildungen waren weder bei den Versuchstieren, noch bei den Kontrollen auszumachen.

d) Während der Beobachtungszeit registrierten wir stetige Grössen- und Gewichtszunahme bei allen Jungtieren, ohne dass formale oder vitale Entwicklungsunterschiede erkennbar wurden. 5 von 65 Versuchstierjungen

(8 von 67 Kontrollen) fielen im Laufe der postnatalen Überwachungszeit aus.

e) 28 Tage nach dem Zusammensetzen wurden 11 lebenskräftige, unveränderte Junge geworfen, deren Durchschnittsgewicht 4,8 g betrug und die sich innerhalb der folgenden 3 Wochen ohne Besonderheit entwickelten.

f) Diskussion: Der Fruchtbarkeitsindex der Kontrollreihe übertraf den der Experimentalserie um 1o%. Dessen ungeachtet scheint, in Anbetracht der leicht gesteigerten Pro-Kopf-Wurfquote in der Versuchstierreihe (8,1 gegenüber 7,6) und der ausbleibenden teratogenen Veränderungen in der 1. und 2. Tochtergeneration eine fertilitätsdepressive Aktivität unwahrscheinlich.

Versuch 5

a) Gewichtsentwicklung: Sämtliche graviden Versuchs-und Kontrolltiere liessen bis zum Geburtstermin deutlich, z.T. exzessiv steigende Gewichtstendenz erkennen. Die nicht tragenden restlichen Ratten stagnierten oder zeigten unerhebliche Gewichtsverschiebungen nach beiden Seiten. Im Durchschnitt wurde das Ausgangsniveau von den Endwerten zum Zeitpunkt der Geburt um 12 g übertroffen.

b) Fertilität:

aa)Versuchstiere: Von 3o warfen 23; der Fertilitätsquotient betrug somit 76,6%. Es ergab sich bei 17 Totgeburten eine Jungtierglobalzahl von 164; folglich

entfielen auf jedes Muttertier 7,1 Junge, bei einer individuellen Schwankungsbreite von 3 bis 11. Der Gewichtsdurchschnitt des Einzeljungen erreichte einen Wert von 5,4 g.

bb) Kontrolltiere: Von den zur Kontrolle verwendeten Ratten trugen und warfen, einem Fertilitätsindex von 7o% entsprechend, 14 von 2o. Es ergab sich in toto eine Gesamtzahl von 92 Jungratten, von denen 82 lebten. Die Einzelwurfmengen schwankten dabei zwischen 3 und 8, ihr Mittel betrug 6,7, das der Geburtsgewichte 6,4 g.

c) Weder in der Versuchs-, noch in der Kontrollreihe waren makroskopische Missbildungen zu objektivieren.

d) Während der Beobachtungszeit zeigten alle Jungtiere stetige Gewichts- und Grössenzunahme. Differenzen in Verhalten und Körpergestaltung traten nicht auf, Akzeleration oder Retardierung im Durchlaufen der Entwicklungsphasen konnten wir, verglichen mit der Kontrolltierreihe, nicht beobachten.

e) Geschwisterpaarung: 21 Tage nach dem Zusammensetzen warf das Weibchen 5, durchschnittlich 9 g schwere, teratogen ungeschädigte Junge, die während einer 3-wöchigen Kontrollzeit keine Besonderheiten boten.

f) Diskussion: Der gegenüber der Versuchsreihe bei den Kontrollen vorteilhaftere Fertilitätsquotient (76,6 : 7o%) ist trotz seiner Koinzidenz mit einem bei den Kontrolltieren ebenfalls über den Vergleichswerten liegenden Einzelwurfindex (7,1:6,4) wegen der Geringfügigkeit der eruierten Differenz für eine fetaltoxische

Potenz des Versuchspräparates ohne Beweiskraft.

Versuch 6

a) Gewichtsverlauf: Trotz der Nähe des experimentell eruierten toxischen Bereiches (v.Tox.-Vers.2) stieg das Gewicht der Versuchstiere ohne signifikante Unterschiede, analog zu dem der Kontrollen, von unbedeutenden Schwankungen abgesehen, kontinuierlich an. Gewichtsstürze, somatische Veränderungen, Verhaltensstörungen oder andere, auf versuchssubstrateigene Giftwirkung zurückführbare Schädigungen der Muttertiere wurden nicht beobachtet. Erst nach der Geburt fielen die Gewichte auf ein die Ausgangswerte um ca. 2o g übersteigendes Endniveau ab.

b) Fertilität:

aa)Versuchstiere: Von den 2o Versuchsratten trugen und warfen 17, einer Fertilitätsrate von 85% entsprechend. Die Gesamtsumme der Jungen erreichte 131, davon 12o lebend und 11 tot geboren. Hieraus ergibt sich eine mittlere Wurfzahl von 7,7 pro Ratte. Das durchschnittliche Geburtsgewicht der Versuchstierjungen belief sich auf 6,8 g.

bb) Kontrolltiere: Die Fertilität betrug 45%; von 2o Ratten warfen 9. Bei einem mittleren Nativgewicht von 7,o g ergab sich ein mütterlicher Wurfzahldurchschnitt von 7,1 und eine Jungengesamtzahl von 64. (alle lebend)

c) Sichtbare teratogene Schäden imponierten weder bei den Lebend- noch bei den Totgeburten.

d) Die Jungtiere bewiesen in der Kontrollzeit Vitalität, unterschiedslose Formentwicklung und typische Verhaltenprägung. Grösse und Gewicht zeigten konstantes Wachstum; alle Jungratten erreichten das fortpflanzungsfähige Alter.

e) Geschwisterpaarung: Das Weibchen warf am 25.Tag nach dem Zusammensetzen 5 teratologisch unauffällige Junge (Durchschnittsgewicht 8,9 g). Sie entwickelten sich während einer 3-wöchigen Kontrollzeit normal.

f) Diskussion: Der Fertilitätsindex der Versuchstiere übertraf signifikant den der Kontrollserie (85% gegenüber 45%). Ein o,6% über dem der Vergleichswerte liegendes Mittelwurfzahl-Niveau der mit Furosemid behandelten Ratten und das Fehlen von Missbildungen in der 1. und 2. Filialgeneration sprechen gegen eine keimschädigende Wirksamkeit der Versuchssubstanz. Die untere Grenze des adulttoxischen Bereiches ist noch nicht erreicht.

Versuch 7

a) Toxizität und Gewichtsentwicklung

Intraperitoneale Injektion von 5o-fach therapieadäquater Furosemiddosis (Definition s.VI 1.) führte bei den Versuchstieren (2o), die wir zur Veranschaulichung zweckmässig in 3 Gruppen aufgliedern, zu differenten Ergebnissen:

aa) akut-toxisch geschädigte Gruppe:

Innerhalb den der Erst-Applikation folgenden 24 Stunden verstarben 2 Ratten aus der Versuchstierreihe. Abgesehen von einer, auf diskrete Dehydrierung zurückzuführende Gewichtsabnahme, waren somatische Veränderungen nicht festzustellen.

bb) Chronisch- toxisch geschädigte Gruppe:

Im Laufe der ersten Hälfte des Experiments (zwischen dem 2.und 1o. Injektionstag) kam es zum Ausfall von 7 Versuchstieren. Im Vordergrund der Erscheinungen stand die Symptomatik: Unruhe, Durst, Fressunlust, schmutzig-glanzloses Fell, Exsikkose, Gewichtsverlust, Kachexie, Somnolenz, Exitus in der angegebenen zeitlichen Folge. Alle übrigen Ratten überlebten das Trauma und zeigten, ebenso wie die Kontrollen, in Abhängigkeit von der stattgefundenen oder nicht eingetretenen Konzeption unterschiedliches Gewichtsverhalten.

b) Fertilität:

aa)Versuchstiere: Von den 11 überlebenden Versuchstieren trugen und warfen 9, entsprechend einem Fertilitätsquotienten von 81,8%. Es ergab sich eine Jungengesamtzahl von 62, davon 2 Totgeburten. Auf jedes Muttertier trafen im Schnitt 6,66 Junge (Schwankungsbreite zwischen 6 und 9) mit einem mittleren Geburtsgewicht von 5,9 g.

bb) Kontrolltiere: Es warfen, einem Fertilitätsindex von 85% entsprechend, 17 von 2o Ratten. Die Gesamtzahl der Jungtiere betrug 128; 19 davon wurden tot geboren.

Die Wurfgrösse schwankte zwischen 4 und 9, im Mittel lag sie bei 5,8; dabei belief sich der Durchschnitt der Geburtsgewichte auf 6,2 g.

c) Weder in der Versuchs- noch in der Kontrolltierreihe waren makroskopische Missbildungen zu objektivieren.

d) Während der Beobachtungszeit registrierten wir stetige Grössen-und Gewichtszunahme bei allen Jungtieren, ohne dass formale oder vitale Entwicklungsunterschiede erkennbar wurden. 3 von 6o Versuchstieren (21 von 1o9 Kontrollen) fielen im Laufe der postnatalen Überwachungszeit aus.

e) Am 26. Tag nach dem Zusammensetzen warf das Weibchen 1o lebensfähige, im Durchschnitt 4,9 g schwere, teratogen ungeschädigte Junge, von denen 9 eine 3-wöchige Kontrollzeit ohne Besonderheiten überlebten.

f) Diskussion: Der Fruchtbarkeitsindex der von den im toxischen Dosenbereich liegenden Furosemid - Injektionen ungeschädigten Versuchstiere wurde von dem der Kontrollen um 3,2% übertroffen. Dessen ungeachtet scheint, in Anbetracht der relativ höheren Pro-Kopf-Wurfquote in der Versuchsreihe (6,66:5,8), der deutlich gesteigerten Totgeburtzahl auf der Kontrollseite und der mangelnden teratogenen Veränderungen in der 1. und 2. Tochtergeneration auch mit diesen subletalen Substanzmengen eine keimtoxische Wirkung nicht zu erzielen.

Versuch 8

Furosemid in 55-fach therapieadäquater Dosierung, 2o Ratten des BD II-Stammes intraperitoneal injiziert, führte in allen Fällen zu akuten und subakuten Noxen mit letalem Ausgang.

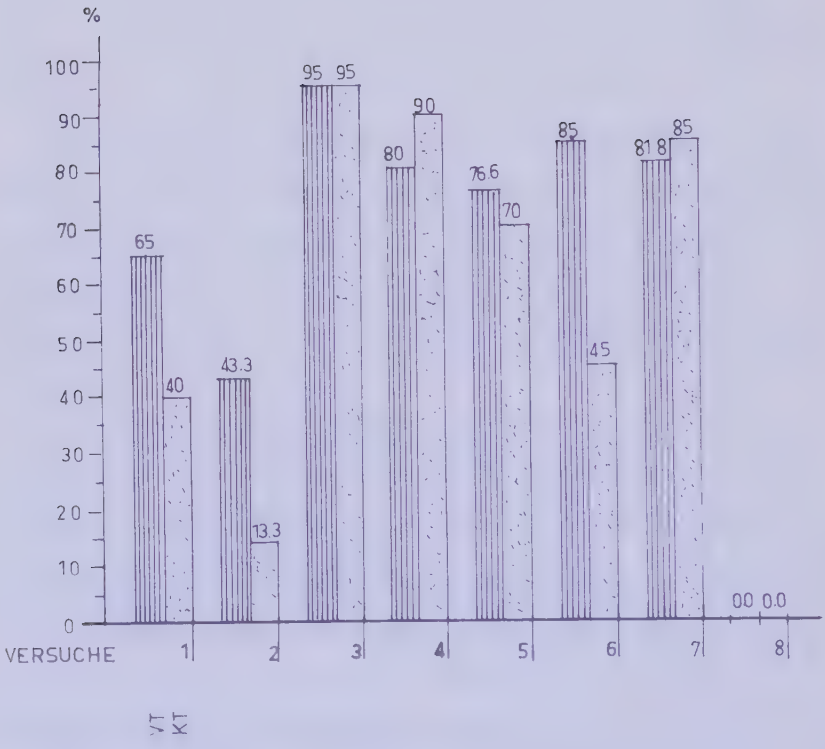
a) Akut-toxisch geschädigte Gruppe:

Während einer sich an die Erst-Applikation anschliessenden 24 Stunden-Zeitspanne gingen von 2o Versuchstieren 15 ein. Innerhalb weniger Stunden kam es zu deutlicher Exsikkose, gefolgt von tiefem Koma. Andere grob-makroskopische Veränderungen waren nicht zu erkennen.

b) Subakut-toxisch geschädigte Gruppe:

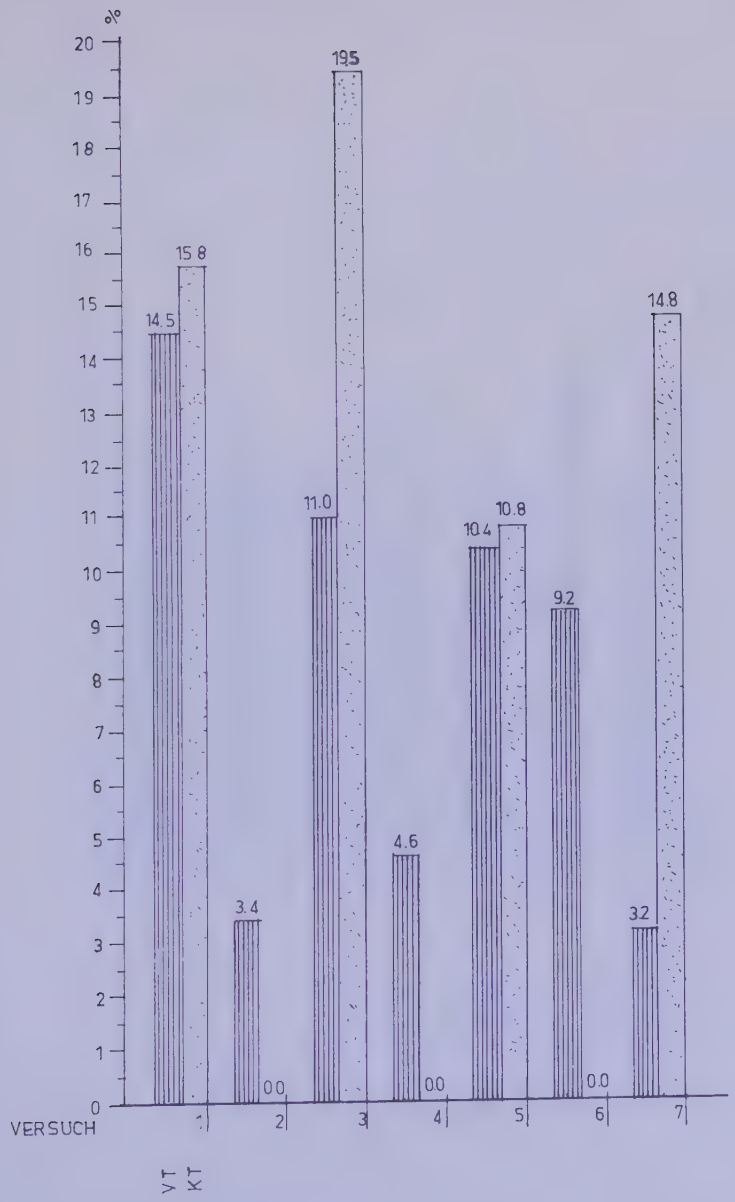
Die übrigen Ratten verstarben sämtlich bis zum Abend des 4. Versuchstages. Zunehmende Dehydrierung, Kachexie, Somnolenz und zuletzt stuporös-komatöse Veränderungen beherrschten je nach Dauer der Überlebenszeit das Bild (s.Tabelle)

Versuchstag	Tierzahl	Erstgewicht	Postmort. Gewicht	in % vom Ausg.wert	Beobachtungen
1.	15	255 g 215 g	235 g 175 g	92,2 81,4	deutl.-mäss. Kachexie-Koma
2.	2	235 g 22o g	21o g 185 g	89,3 84,1	deutl.Kachexie Koma
3.	2	23o g	17o g	73,9	starke-sehr st. Dehydrierung u.Exsikkose Koma
4.	1	21o g	155 g	73,8	starke Dehydrierung u. Kachexie,Koma.



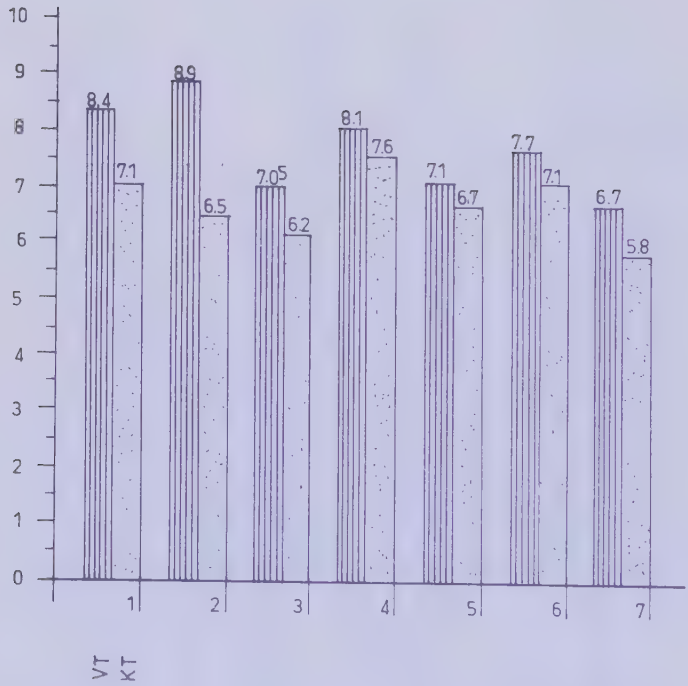
FERTILITÄT IN %

Abb. 5



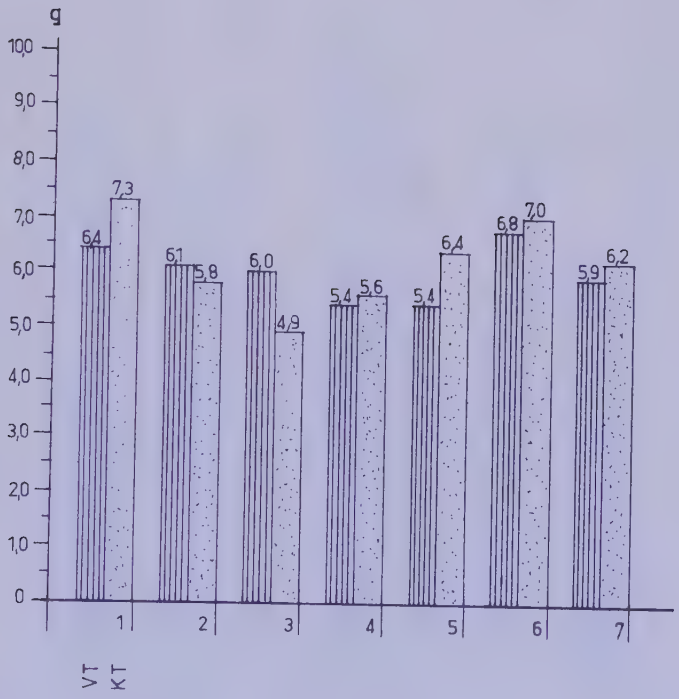
TOTGEBURTEN IN %

Abb. 6



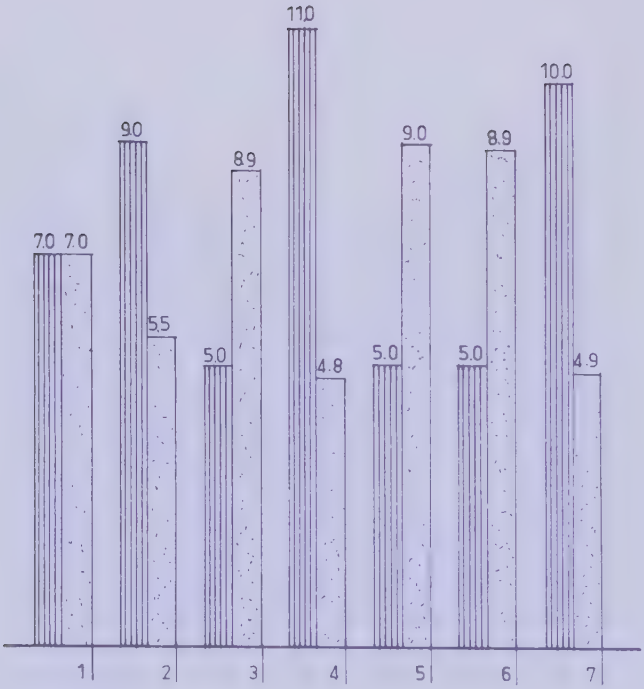
MITTLERE WURFZAHLEN

Abb. 7



MITTLERE GEBURTSGEWICHTE IN g

Abb. 8



WURFGRÖSSEN UND DURCHSCHNITTSGEWICHTE IN DER F_2 - GENERATION

Abb. 9

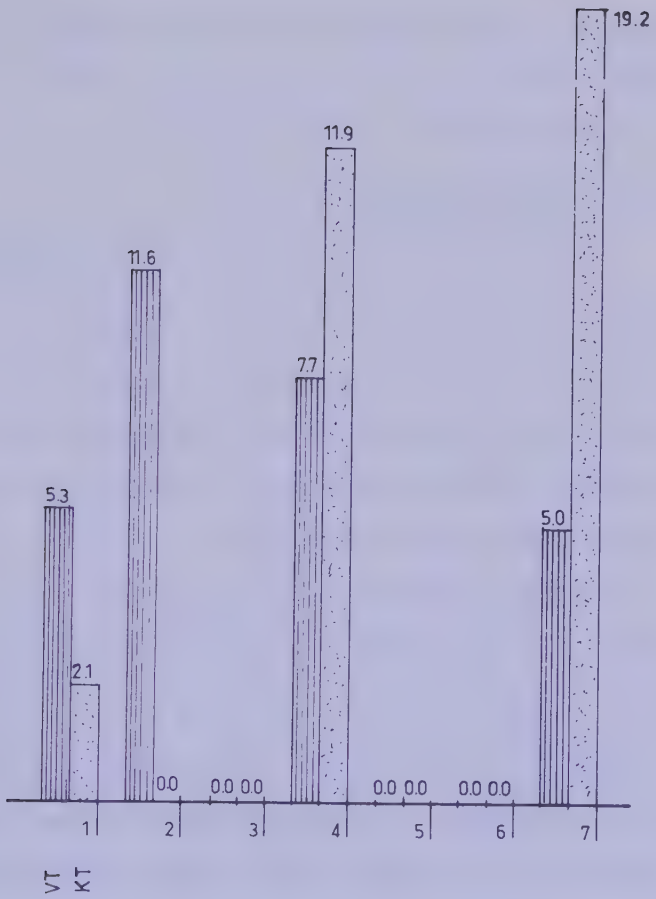

19.2
11.9
11.6
7.7
5.3
5.0
2.1
0.0
0.0 0.0
0.0 0.0
0.0 0.0
1
2
3
4
5
6
7
VT
KT
AUSFÄLLE WÄHREND DER KONTROLLZEIT %

Abb 1o.

c) Diskussion: Mit der 55-fach therapie-isodynamen Furosemiddosis haben wir den Bereich der akuten und subakuten LD loo erreicht; evtl. eingetretene Konzeptionen wurden unmittelbar nach ihrem Entstehen abgetötet, sodass es zu Missbildungen nicht kommen konnte.

4.) Gesamtergebnis

Wie aus Versuchsbeschreibung und Diagrammen ersichtlich, wurde bei intraperitonealer Furosemidinjektion, bis zur Erreichung des für Ratten akut-toxischen Bereichs mit keiner der verwendeten Dosen eine gegenüber den nur mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Kontrolltieren bemerkenswerte Stagnation oder Depression der Experimentaltier-Gewichtskurven beobachtet.

Da sich ferner auch bei den höchsten von den Versuchstieren tolerierten Furosemiddosen eine Reduktion der Fertilitätsquoten im Vergleich zu den Kontrollen nicht objektivieren liess und zudem die durchschnittlichen Versuchstier-Wurfzahlen die Vergleichswerte meist übertrafen, da weiterhin die Jungtier-Mittelgewichte sich nicht beeinträchtigt zeigten, keine erhöhte Totgeburtsrate auffiel, makroskopische Missbildungen nicht imponierten, während einer 4-monatigen Beobachtungszeit sich pathologische Form- und Verhaltensvarianten nicht ausbildeten und auch in der 2. Filialgeneration bei Geschwisterpaarung völlig willkürlich ausgewählter Nachkommen weder apparente teratogene Veränderungen noch eine erhöhte Krankheitsbereitschaft fassbar wurden, ist eine keimschädigende Akti-

vität von Lasix-Hoechst (während der Tragzeit i.p. injiziert) bei Ratten des BD II-Stammes nicht zu erwarten.

Mit diesem Resultat befinden wir uns in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der von der Herstellerfirma ebenfalls an Ratten angestellten tierexperimentellen Untersuchungen, die einen Hinweis auf fruchtschädigende Wirkung von Furosemid bei einer Dosierung von loo mg/kg nicht ergaben.

VII. Zusammenfassung

Vorliegende Arbeit weist einleitend auf die als Folge der Thalidomidkatastrophe erstmals in grösserem Umfange gelungene Korrelation bestimmter kausaler Noxen mit determinierten teratogenen Veränderungen und die Schwierigkeit ihrer Erfassung hin.

Alsdann wird eine Definition des Begriffes Teratogenese gegeben sowie an Hand der Literatur auf Formen und auslösende Faktoren, bisherige teratologische Forschung und Problematik des teratologischen Tierexperiments eingegangen.

Es folgt eine Begriffsbestimmung und Einteilung der Saluretica zur Einordnung unserer Versuchssubstanz, des Furosemid und eine Darstellung seiner wichtigsten experimentellen und klinischen Eigenschaften.

Im Anschluss an die Besprechung des verwendeten Tiermaterials und seiner physiologischen, embryologischen und teratologischen Besonderheiten werden Methodik und Ergebnisse der eigenen Versuche erläutert:

In Form einer, während der Gesamtdauer der Tragzeit an Ratten des BD II-Stammes durchgeführten intraperitonealen Injektionsbehandlung, wurde im Verlauf mehrerer Versuchsreihen die teratogene Aktivität der von den Farbwerken Hoechst entwickelten und unter dem Namen " Lasix " vertriebenen Substanz Furosemid ausgetestet.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

1.) Auch bei den höchsten von den Versuchstieren tolerierten Furosemiddosen liess sich eine Reduktion der Fertilitätsquotienten gegenüber den Kontrollen nicht beobachten.

2.) Die neugeborenen Ratten zeigten in Versuchs- und Kontrollreihen keine signifikante Gewichts-, Form- und Grössendifferenz. Missbildungen konnten nicht objektiviert werden.

3.) Auch in der 2. Filialgeneration waren Formvarianten, erhöhte Krankheitsbereitschaft oder Depression der Vitalität nicht nachzuweisen.

Ein Vergleich mit den Untersuchungen der Herstellerfirma ergab Übereinstimmung.

VIII. Verzeichnis des Schrifttums

1.) Ambrosoli, S., V.E. Andreucci, G. Baronio u.Mitarb.: Klinische Untersuchungen über die diuretische Wirkung des Furosemid. Minerva nefrol.(Torino) 11,(1964)No.2 56-72

2.) Badtke, G., K.H. Degenhardt, H. Stengel: Z. Versuchstierk. 4, (1964), 25

3.) Bergström, J., E. Hultmann, B. Josephson: Untersuchungen eines neuen Diureticums (Furosemid) an gesunden Versuchspersonen und einer kleinen Anzahl von Patienten mit Kreislaufinsuffizienz. Svenska Läk.-Tidn 61,(1964) No.3o, 2226-2239

4.) Bignami, G., D. Bovet, D.Bovet-F.,Nitti und V.Rosnati Drugs and congenital abnormalities, Lancet 1962/II,1333

5.) Brock, N., Th. von Kreybig: Arch.exp.Path.Pharmak. 249,(1964), 117

6. Brock, N., Th. von Kreybig: Arzneimittel-Forsch. 14,(1964), 655

7.) Buchborn, E.u.S. Anastasakis: Angriffspunkt und Wirkungsmechanismus von Furosemid am distalen Nephron des Menschen. Klin.Wschr.42,(1964),No.22, 1127-1131

8.) Buchheit, H., K.H.Nicolai: Beeinflussung des Schwangerschaftsödems mit Furosemid (Lasix) Med.Klin.1961, No.38, 1515-1518

9.) Courrier, R.: La traversée placentaire des stéroides. Leur action sur le foetus - La traversée mammaire. Teratogenesis, Symposium der Schweiz. Akad.d.med. Wiss., Basel, 26./27.Okt.1963
Verlag Schwabe & Co, Basel-Stuttgart

1o.) Debrunner,H.: Einige Ergebnisse aus experiment. Untersuchungen über Missbildungs-Entstehungen. Verh.dtsch.orthop.Ges.24 Tg.Z. orthop.Chir.52,37o(193o)

11.) Degenhardt, K.H.: Aetiologische Untersuchungen über Missbildungen. Method.Inform.Med.Z.41,(1963)

12.) Druckrey,H., D.Steinhoff: Arzneimittel-Forsch.12 (1962), 911

13.) Druckrey, H.: Münchner med.Wschr.98,(1956), 295

14.) Duspiva,F.: Biochemie des Wachstums und der Differenzierung. In Büchner-Letterer-Roulet: Handbuch der Allg.Pathalogie, Bd.VI/1, 3o7 Verlag Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1955)

15.) Dyban,A.P.: Grundriss der pathologischen Embryologie des Menschen. Deutsche Übersetzung der 1959 in Russisch erschienen Monographie.Verlag Fischer,Jena 1962

16.) Edwards, J.H.: The epidemology of congenital malformations. Teratogenesis, Symposium der Schweiz.Akad. d.med.Wiss.,Basel, 26./27.Okt.1963 Verlag Schwabe & Co, Basel-Stuttgart.

17.) Erhard, R., Wilh.Roux' Arch.Entwickl.-Mech.Org. (1961), 153, 217.

18.) Erling, Hammer, Jakobsen: Therapeutic abortion on account of X-ray examination during pregnancy. Dan.med.Bull.6, 113-122 (1959)

19.) Essbach,H.: Paidopathologie, Kyemopathien, Neogonopathien, Thelamonopathien. Verlag: Thieme, Leipzig (1961)

2o.) Farrario,E. and Fortina, A.: Minerva ginec.2, 298 (195o)

21.) Felisati,D.: Thalidomide and congenital abnormalities. Lancet 1962/II, 724-725

22.) Flamm,H.: Die praenatalen Infektionen des Menschen Verlag Thieme, Stuttgart, (1959)

23.) Fraser,F.C.: Methodology of experimental mammalian teratology. In: Methodology in mammalian genetis. W.J.Burdette, editor, Holden-Day,San Francisco (1963)

24.) Gayer,J.: Die Ausscheidung von Furosemid durch die Niere des Hundes. Med.Welt (1964), No.2o, 1155

25.) Giroud,A., Tuchman-Duplessis, H.Mercier u.L.Parot: Thalidomide and congenital abnormalities, Lancet 1962/II, 298-99

26.) Giroud,A., Tuchmann-Duplessis, H.L.Mercier-Parot, Ch.Roux.Soc.Biol. (Paris) 161 (1962) 1646

27.) Giroud,A.: Vitamine A. et tératogénèse. Teratogenesis, Symposium der Schweiz.Akad.d.med.Wiss. Basel, 26./27.Okt.1963 Verlag Schwabe & Co, Basel-Stuttgart.

28.) Goerttler, K.: Was wissen wir über die Entstehung von Missbildungen. Schlesw.-Holstein.Arztebl.16,H.6 (1963)

29.) Goerttler,K.: Kyemopathien (Embryo-Fetopathien) Handbuch Humangenetik 2,Verlag Thieme Stuttgart (1963)

3o.) Goerttler, K.: Die Atiopathogenese angeborener Entwicklungsstörungen vom Standpunkt des Pathologen. I. Europ. Anatomenkongr.Strassburg 196o Anat.Anz., Erg.zu Bd.1o9, 35 (196o/61)

31.) Goerttler,K.: Der praenatale Organismus als reagierendes Subjekt. Teratogenesis, Symposium der Schweiz. Akad.d.med.Wiss.Basel, 26/27.Okt.1963 Verlag Schwabe & Co, Basel-Stuttgart.

32.) Gottschewski, G.H.M.: Med.Welt (1963), 2545

33.) Gregg, N. Mc.Alister: Congenital cataract following German meastersin the mother. Trans.Ophtal.Soc.Aust.1-4, 35-46 (1941)

34.) Grosser ,O.: Entwicklungsgeschichtl.Grundlagen amniotischer M,ssbildungen. Verh.deutsch.path.Ges. 31.Tag S.213, Stuttgart 1938

35.) Gruber, G.B.: Über Wesen und Abgrenzung amniogener Missbildungen, Verh.dtsch.path.Ges.31,S.228 Stuttgart 1938

36.) Hackenberger,J., Th.von Kreybig: Arzneimittel'-Forsch.15 (1965), 1456

37.) Hadju,P. und A.Häussler: Untersuchungen mit dem Saliduretikum Furosemid: I.und II.Arzneimittel Forsch. 14/7o9 + 14:71o (1964)

38.) Hamperl,H.: Lehrbuch der Pathologie, 24.-25.Aufl., Verlag Springer, Berlin-Gött.-Heidelberg (196o),6o

39.) Haskin, D.: Anat. Rec. 1o2 (1948) 493

4o.) Heidland,A., K.Klütsch und F. Suzuki Nierenhämodynamik, Wasser- und Elektrolytausscheidung nach Furosemid, Arzn.Forsch.14:713 (1964)

41.) Hick, S.P.: Developmental malformations produced by radiation. Amer J. Roentgenol. 69,(1953)272-293

42.) Hottinger, A.Risiken therapeutischer Massnahmen für die Frucht, Schweiz.med.Wschr.93 (1963)2o1-2o7

43.) Jurand, A.:Embryol.exp.Morph. 9,(1961) 492

44.) Justin-Besancon, H. Péquignot, Ch.Roux Comment l'interniste pourrait-il dépister, les accidents cliniques de la tératogénèse pharmacogène ?

Teratogenesis, Symposium der Schweiz.Akad.d.med. Wiss., Basel, 26./27.Okt.1963
Verlag Schwabe & Co, Basel-Stuttgart.

45.) King, CTG.: Science 141 (1963), 335

46.) Kiessling,J.: Praktische Erfahrungen mit Lasix, einem neuen Salureticum. Münch.med.Wschr.1o7 (1965) No.2., 95-97

47.) Kleinfelder, H.: Experimentelle Untersuchungen und klinische Erfahrungen mit einem neuen Diureticum. Dtsch.med.Wschr.88 (1963) No.35, 1695-17o2

48.) Klütsch,K., A.Heidland und F. Suzuki:
Comperative Changes in Free Water Clearance after Administration of Fursemide, Polythiazide and Hydrochlorothiazide.
Atti.dell' Accad.Med.Lombarda 18/1963, 1255

49.) Knörr,K.: Was kann der Geburtshelfer zur Vermeidung kongenitaler Anomalien beitragen ?
Teratogenesis, Symposium der Schweiz.Akad.d.med.Wiss. Basel 26/27.Okt.1963, Verlag Schwabe & Co, Basel-Stuttgart.

5o.) Königstein, R.P.: Die Anwendung von Furosemid (Lasix) in der Geriatrie, Wiener med.Wschr.77/93-97

51.) Kramer, G.: Zur medikamentösen Regulierung des Wasserhaushalts bei Hirnödemen.Med.Welt (1964) No.42,2238

52.) Kreybig von, Th.: Arch.exp. Path. Pharmak.
247 (1964) 364, 251 (1965) 197,
252 (1965) 173 u.196 253 (1966) 59

53.) Krone, H.A.: Klinische Untersuchungen zur Aetiologie menschl.Missbildungen, Dtsch.Med.Wschr.88(1963)567-76

54.) Kühn,A.: Vorlesungen über Entwicklungsphysiologie
Verlag Springer, Berlin 1955

55.) Kullander, S., B. Källen: Pharmaka und Frauen im gebärfähigen Alter, Teratogenesis, Symposium der Schweiz.Akad.d.med.Wiss.,Basel, 26./27.Okt.1963
Verlag Schwabe & Co, Basel-Stuttgart.

56.) Kuschinsky,G.: Lehrbuch der Pharmakologie
Verlag Thieme, Stuttgart 1964, 78-84

57.) Larizza,P., P.Brunetti, G.Nenci und L.Coli:
Osservazioni clinico-terapeutische e di funzionalita renale con il nuovo diuretico furosemide
La Clinica Terapeutica 29 (1964) No.4, 297-31o

58.) Larizza, P., P. Brunetti, G.Nenci und L.Coli:
Klinische Erfahrungen mit dem neuen Diureticum Fursemid. Med.Klin.59 (1964) No.32, 1284-1287.

59.) Lefebvre,J.: Action des radiations ionisantes sur l'embryon et le foetus.
Teratogenesis, Symposium der Schweiz.Akad.d.med. Wiss., Basel, 26./27.Okt.1963
Verlag Schwabe & Co, Basel-Stuttgart.

6o.) Lehmann, F.E.,: Die embryonale Entwicklung und Entwicklungsphysiologie u.experimentelle Teratologie, Hd.allg.Path.6/I. Verlag Springer (1935)

61.) Lenz,W.und K.Knapp: Die Thalidomid-Embryopathie
Dtsch.med.Wschr.87 (1962), 1232-1242

62.) Lenz, W.: Arzt.Mitt.(1962) 494

63.) Lenz,W.: Fortsch.Med.(1963) , 148

64.) Lenz,W.: Lancet 1962,I, 271.

65.) Limburg, H.: zitiert nach "Lasix" die Ergebnisse des internationalen Furosemid-Symposion in Bad Homburg am 5.und 6.12.1963

66.) Loosli R. und E. Theiss: Methodik und Problematik der medikamentös-experimentellen Teratogenese. Teratogenesis, Symposium der Schweiz.Akad.d.med. Wiss., Basel, 26./27.Okt. 1963

67.) Lucey, J. P. und R. E. Behrmann: Thalidomide effect upon pregnancy in the rhesus monkey Science 139,(1963), 1295-1296

68.) Maier,W.: Dtsch. med. Wschr. 88,(1963), 21

69.) Mann, M., J. Gfeller und W. Siegenthaler: Beurteilung der aldosteronantagonistischer Wirkung eines Diuretikums, Zschr. klin. Chem.2, (1964), No.4, 123

7o.) Mayer, J.B.: Der Einfluss des mütterlichen Diabetes auf das werdende Kind. Die diabetogenen Embryopathien Teratogeneis, Symposium der Schweiz. Akad.der med. Wiss., Basel, 26./27.Okt. 1963
Verlag Schwabe & Co, Basel-Stuttgart.

71.) Mc. Ilwaine, C.L.K., D.H. Smith: New Dimetic Lanx Brit.-med.J. No. 5419 , (1964), 1265

72.) Millen, J.W.: The Application of the results of experimental research work on animals to man Symposium der Schweiz. Akad.d.Wiss.

73.) Mühlbächer, W.: Zur Austreibung erkennbarer und verborgener Ödeme: Landarzt 4o (1964), No.24, 1o43

74.) Mullins, J.H., J.A. Farris und Atkinson J.C.: Fetal damage from rubella during pregnancy. Obstet and Gynec.15, (196o), 32o-321.

75.) Murphy,L.: Cli.Proc.Child.Hosp.Wschr.18,(1962),3o8

76.) Muschaweck,R.und P.Hadju: Die Salidiuretische Wirksamkeit der Chlor-N-(2-Furylmethyl)-5-sulfamyl-anthranilsäure. Arzneim.Forsch.14,(1964),44-47

77.) Otis,E.M. et Brent R.: Equivalent ages in mouse and human embryos.Anat.Rec.12o,(1954) 33-63

78.) Pliess,G.: Pränatale Schäden. Erg.Inn.Med.und Kinderheilk.N.F. Bd.17,263. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1962)

79.) Plummer,G.: Anomalies occurring in children exposed in utero to the atomic bomb in Hiroshima. Pediatrics 1o, 687-293 (1952

8o.) Raynaud,A.: C.R.Soc.Biol.(Paris) 136, (1943), 337

81.) Riemschneider,R.: K. Brockmeyer, H.Sommer: Über die teratogene Wirkung organischer Verbindungen I.Eine Laboratoriums-Testmethode. Naturf.18 b, 167 bis 168 (1963)

82.) Roux Ch.: Arch.Franc.Ped.16 (1959), 1

83.) Rugh,R.: X-radiation effects on the human foetus. J.Pediat 52, (1958), 531-538.

84.) Schäfer, H.F.: Moderne Diuretica und ihre Nebenwirkungen beim Diabetes mellitus. Die med.Welt 1 (1964) No.16/64, 922-926.

85.) Schmidt,W., Th.von Kreybig: Z.Anat.Entwickl.Gesch. 124, (1966), 588

86.) Schnack,H.: Therapeut.Erfahrungen mit einem neuen Salureticum, Wien.Klin.Wschr.76, (1964), 476

87.) Schwalbe,E.: Allgemeine Missbildungslehre(Teratologie) In Schwalbe-Gruber.Handbuch der Morphologie der Missbildungen des Menschen u.der Tiere. Band I, Verlag Fischer, Jena 1906

88,) Seller, M.J.: Thalidomide and congenital abnormalitis Lancet 1962/II, 249

89.) Siegel, M. und M.Greenberg: Fetal death, malformation and prematurity after maternel rubella. New.Engl.J.Med.262, 389,393 (1960)

90.) Somers, G.F.: Thalidomid and congenital abnormalities Lancet 1962/I, 912-913

91.) Stenger, E.G., L.Aeppli, J.Frata: Arzneimittel-Forsch.15/1965, 1222

92.) Stockes,W., L.C.A.Nunn: A new effective Diuretic-Lasix: Brit.med.J.(1964), Vol.2, No.5414, 910.

93.) Suzuki,F., K.Klütsch u.A. Heidland: Stop-Flow-Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Furosemid, Klin.Wschr.42, (1964), 569.

94.) Symposium über Induktion und Morphogenese 13. Kolloquium der Gesellschaft für Physiol.Chemie in Mosbach-Baden.Verlag Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1963)

95.) Timmerman,R.J., F.R.Springman und R.K.Thoms,: Evaluation of Fursemide, a new diuretic agent. Current Therapeutic Research 6 (1964) No.2, 88-94

96.) Töndury, G.: Embryopathien. Path.u.Klink ind Einzeldarstellungen 11, Verlag Springer,Berlin(1962)

97.) Töndury,G.: Über Infektionsweg und Pathogenese der Viruserkrankungen des menschl.Keimlings. Dtsch.med.Wschr.87,(1962) 2561-2565

98.) Tuchmann, D.H.: Role des facteurs externes dans la production des malformations. Maternité 11,No.3, (1962) 39-46

99.) Tuchmann-Duplessis, H., L. Mercier-Parot: Répercussions des neuroleptiques et des antitumoraux sur le développement prénatal.Teratogenesis, Symp.der Schweiz.Akad.d.med.Wiss., Basel, 26./27.Okt. 1963, Verlag Schwabe & Co.,Basel-Stuttg.

loo.) Vaille,Ch.: L'effet tératogènes des médicaments. Libre Pharm.175, (1962), 7

lol.) Ventura, E.: Untersuchungen über die Wirkungen von neuen Diuretica beim Menschen. Atti Accad.med. Lombarda, Milano, 18 (1963), 951

lo2.) Vorburger, C.: Die akute Wirkung des Diureticums Fursemid auf das Glomerulumfiltrat, die renale Hämodynamik, die Wasser-, Natrium-, Chlorid- und Kaliumausscheidung und auf den Sauerstoffverbrauch der Nieren. Kl.Wschr.42, (1964), No.17, 833.

lo3.) Vorburger,C. und A.Huber: Furosemid, ein neues Diureticum. Ther.Umschau 21, (1964), 486-491.

lo4.) Warkany, J.: Physiol.Rew.39 (1959)

lo5.) Werthemann,A.: Allgemeine Teratologie mit bes. Berücksichtigung der Verhältnisse beim Menschen. Hdb.allg.Path.6/I, Verlag Springer (1955).

1o6.) Werthemann,A.: Die Entwicklungsstörungen der Extremitäten, Hdb.Spez.Path., Henke-Lubarsch, 9/6, Verlag Springer, Berlin(1952).

1o7.) Werthemann,A.: Allg.und spez.Ursachen bei der Analyse von Missbildungsursachen in Sonderheit Thalidomid- und Aminoptherinschäden. Schweiz.med.Wschr. 93, (1963), 223.

1o8.) Werthemann,A.: Allg. Einführung und Missbildungen aus placentarer Beeinträchtigung, insonderheit sog.amniogene Schnürungen und Schädigungen der Frucht. Teratogenesis, Symposium der Schweiz. Akad.d.med.Wissenschaften, Basel, 26./27.Okt. 1963, Verlag Schwabe & Co, Basel-Stuttgart.

1o9.) Wiedemann, H.R.: Klinische Bemerkungen zur pharmakogenen Teratogenese, Symp. über Teratogenesis.

11o.) Wiedemann, H.R.: Med.Welt 1961, 1863, 1963, 79.

111.) Wiedemann, H.R.: Mschr.Kinderheilkunde 111, 1963, 76

112.) Wilbrandt,W.: Die Bedeutung der Thalidomid-Unfälle, Schweiz.med.Wschr. 93, (1963), 1oll-1o16.

113.) Willis,R.A.: The Borderland of embryology and pathology, Butterworth Medical Publications 2o8, London, (1958)

114.) Wilson, J.G.: J.Pharmakol.exp.Ther.144 (1964) 429.

Herrn Prof. Dr. med. H. Limburg sowie meinem Referenten Herrn Priv.-Doz. Dr. med. M. Krahe danke ich bestens für die Überlassung des Themas und die mir gewährte Hilfe.

L E B E N S L A U F

Geboren in Kaiserslautern am 15.Januar 1941 verbrachte ich meine Schulzeit an den Altsprachl.Gymnasien Speyer/Rh. und Kaiserslautern, wo ich 1960 die Reifeprüfung ablegte. Zwischen 1960 und 1966 studierte ich Medizin an der Universität des Saarlandes, bestand 1961 in Saarbrücken die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1963 in Homburg/Saar das Physikum und 1966 ebenfalls in Homburg/Saar das ärztliche Staatsexamen. In der Folgezeit arbeitete ich als Medizinalassistent an der Landeskinderklinik Neunkirchen-Kohlhof, auf der Chirurgischen Abteilung des Evangel. Krankenhauses Kusel/Pfalz, in der Lungenheilstätte Ludweiler/Warndt und auf der Inneren Abteilung des St.Elisabeth-Krankenhauses Zweibrücken. Nach Beendigung meiner gynäkologischen Pflichtzeit an der Privatklinik Dr.Harde,Pirmasens, werde ich im Herbst dieses Jahres um Erteilung der Approbation nachsuchen.

ROTAPRINT-
OFFSET-
DRUCKEREI
Klein
6602 DUDWEILER
Scheidter Straße 26
Tel. Sulzbach 7 32 84
IHR LIEFERANT FÜR DRUCKSACHEN ALLER ART